

공고특허10-0266912

(19)대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl. 6
A61K 9/50

(45) 공고일자 2000년12월01일
(11) 공고번호 10-0266912
(24) 등록일자 2000년06월29일

(21) 출원번호	10-1994-0703034	(65) 공개번호	특1995-0700053
(22) 출원일자	1994년08월29일	(43) 공개일자	1995년01월16일
번역문제출일자	1994년08월29일		
(86) 국제출원번호	PCT/US 93/01773	(87) 국제공개번호	WO 93/17669
(86) 국제출원출원일자	1993년03월01일	(87) 국제공개일자	1993년09월16일

(81) 지정국	국내특허 : 오스트레일리아, 바베이도스, 불가리아, 브라질, 체코, 캐나다, 헝가리, 일본, 북한, 대한민국, 스리랑카, 마다가스카르, 몽골, 노르웨이, 뉴질랜드, 폴란드, 루마니아, 슬로바키아, 우크라이나, AP ARIPO특허 : 말라위, 수단, EA EURASIAN특허 : 러시아, EP 유럽특허 : 핀란드,
(30) 우선권주장	843485 1992년02월28일 미국(US)
(73) 특허권자	보드 오브 리전츠 더 유니버시티 오브 텍사스 시스템 파라비 레이 미국 78701 텍사스주 오스틴 웨스트 7번 스트리트 201
(72) 발명자	후벨 제프리 에이. 미합중국 텍사스 78703 오스틴 베벌리 로오드 3006 페타크 천드라세크하르 피. 미합중국 매사추세츠 02154 왈탐 스테언즈 힐 로오드 3102 소니 아마프리트 에스. 미합중국 매사추세츠 02158 뉴턴 처치 스트리트 148 데사이 네일 피. 미합중국 캘리포니아 90036 로스앤젤리스 알란델 애비뉴 847 힐 제니퍼 엘. 미합중국 텍사스 78741 오스틴 엔오. 821 워커스햄 레인 2501
(74) 대리인	문창화
심사관 : 윤경애	

(54) 조직접촉물질이며 방출조절운반체인 광중합성 생분해성 하이드로겔

요약

본 발명은 중합되고 가교화되는 매크로머의 하이드로겔(hydrogels)에 관한 것으로, 상기 매크로머는 친수성 올리고머로 구성되고, 상기 올리고머는 생분해성 모노머나 올리고머 연장줄기를 가지며, 상기 생분해성 연장줄기에는 중합과 가교가 가능하도록 모노머나 올리고머 말단이 연결되어 있다. 친수성 코어(core) 자체는 분해될 수 있으며 연결작용기에 연결된다. 중합체는 장파자외선이나 가시광선으로 자극(excitation)되거나 열에너지로 받아 자유라디칼 개시제를 사용하여 중합된다. 생분해는 연장 올리고머내의 연결에서 생기며 그 결과 인체에 무해하면서 쉽게 분리되는 작은 조각으로 나누어진다. 하이드로겔을 사용한 실시예에는 외과수술후 유착 형성의 방지, 약물과 생체활성물의 방출조절, 조직 표면의 일시적 보호나 분리, 봉합조직의 유착과 조직 표면에 세포의 유착방지가 포함된다.

대표도

도1a

명세서

[발명의 명칭]조직접착물질이며 방출조절운반체인 광중합성 생분해성 하이드로겔[발명의 상세한 설명][기술분야]본 발명은 하이드로겔에 관한 것으로 조직 접착과 약물의 송달조절에 사용하기 위한 광중합성, 생분해성 하이드로겔에 관한 것이다.

[배경기술]본 발명은 1992년 2월 28일 출원된 미국특허출원번호 제07/843,485호(발명의 명칭: 조직접착물질과 방출조절운반체로서 생분해되는 광중합 하이드로겔, 발명자: 제프리 에이. 후벨, 샀드라셰카 피. 패트릭, 아마르프리트 에스. 소니)에 대한 우선권주장을 한 것이다.

[방출조절 운반체로서 하이드로겔] 생분해되는 하이드로겔은 호르몬, 효소, 항생제, 항암제 및 세포액과 같은 생물학적 활성물의 운반체가 될 수 있다. 운반되는 물질의 작용을 일시적으로 보호하면서 국소 조직이나 체순환 과정에서 물질의 방출조절이 가능하게 된다. 적당한 하이드로겔 중합체를 선택하여 일정한 투과성, 세공의 크기 및 분해속도를 갖는 막(膜)을 형성시킴으로써 외과나 의학적인 진단 및 치료에 다양하게 응용될 수 있다.

[유착제(adhesives)와 봉합제]피브린겔(fibrin gels)은 유럽에서 외과수술용으로 접착제나 봉합제로 널리 쓰여지고 있다. (툼슨 등, 1988, "피브린 유착제: 지혈제로서 피브린유착제의 제조, 효과 및 부작용" Drug Intell. and Clin. Pharm., 22:946; 기블 등, 1990, "피브린 유착제: 완전한 수술 봉합제란?" 트랜스퓨전, 30(8):741).

그러나 피브린 겔은 혈액 생성물로부터 질병이 감염되는 문제점이 있어 미국에서 널리 사용되지는 않았다. 대신에 합성 중합체가 유착제로서(어드밴스 인 폴리머 사이언스 77:65-93) 개발되어 왔으나, 이런 물질들은 국소 염증이 발생하고, 세포가 독소화(cycotoxicity)되며, 생체에 적합하지 않는 문제점이 있었다.

[수술 후 유착의 억제]복강과 복막으로 형성된 기관을 수술한 후, 자주 발생하는 수술후의 유착은 복부외과에 문제점으로 알려져 왔다. 손 접촉과 건조 때문에 발생하는 조직의 외과적 손상으로 장액 혈액상(단백질생성의) 삼출액이 방출되어 골반강에 모이게 된다(홀츠, G., 1984). 만약, 삼출액이 이 기간 내에 흡수되거나 용해되지 않으면 섬유 아세포로 자라게 되며, 이로 인해 교원질 침착이 발생하여 유착이 형성된다.

그 동안 유착 형성을 억제하는 여러 가지 시도가 있었는데 대부분 일부분에서 효과를 얻고있다. 그런 시도 중에는 복강의 세정, 약물의 투약, 조직을 인위적으로 분리시키기 위한 장벽의 설치 등이 있었다. 예를 들어 보이어즈(1988)의 "고어-텍스 외과수술용 막으로 토끼에서 수술후 골반유착의 감소"(Fertil. steril., 49:1066)에서는 유착을 방지하기 위해 고어-텍스 외과수술용 막을 사용하였다.

홀츠(1984)의 "복막유착의 억제와 처치(Fertil. steril., 41:497-507)"에는 유착억제에 대해 상술되어 있다. 그러나 이들 중 어느 것도 생체 내에서 적용할 때 비용 효율성이 낮아지는 문제가 있다.

폴록사머(poloxamer) 407 용액이 유착치료에 사용되며 부분적으로 성공을 거두었다. 폴록사머는 산화에틸렌과 산화프로필렌의 공중합체(copolymer)로 물에 잘 녹으며 그 용액은 상온에서 액체상태이다. 스타인라이트너등(1991)의 "재생외과학을 위한 설치류 모형에서 수술후 유착 형성 및 재형성을 억제하기 위한 복막 내 장벽물질로서 폴록사머 407"(Obstetrics and Gynecology, 77(1):48)과 리취 등(1990)의 "쥐 자궁각 모형에서 폴록사머를 이용한 수술 후 유착의 감소"(Am. J. Obstet. Gynecol. 162(5):1317)에서는 복막유착모형에서 폴록사머 용액을 시험하여 통계상으로 유착이 현저히 감소되는 것을 관찰하였다. 그러나 이에도 불구하고 유착이 완전히 없어지지 않았는데 아마도 그것은 손상된 부위에 제한적인 유착과 잔류물이 있기 때문이다.

산화기어 재생된 셀룰로오스는 임상실험을 통해 인터시드 TC7이란 이름의 상품화된 물질로 유착을 억제하는데 광범위하게 사용되고 있다. 이 장벽물질은 토끼{린스키 등 1987 "토끼 자궁각(角) 모델에서 TC-7을 사용한 유착의 감소"} J. Reprod. Med., 32:17; 다이아몬드 등 1987 "유착형성 및 재형성의 발명학:재생과 응용"Microsurgery 8:103}와 인체(인터시드(TC7) Adhesion Barrier Study Group 1989)에서 약간 효과가 있었다. 이때 헤파린으로 먼저 치료하면 더욱 효과적이지만 여전히 유착을 완전히 제거시킬 수는 없었다.(다이아몬드 등, 1991 "토끼 자궁각 모델에서 유착형성의 감소시키기 위한 인터시드(TC7)와 헤파린의 상승효과" 임신과 불임, 55(2): 389)

간단하게 요약하면 몇 가지 세정법, 약물요법, 장벽물질요법이 개발되었지만 여전히 유착을 완전히 제거하지는 못하고 있는 실정이다. 이상적인 장벽물질은 유착반응 자체를 유발시키지 않고, 봉합 없이 적재적소에 머무르게 되며(홀츠 등,

1982 "봉합에 의한 다양한 조직반응과 구경의 유착유도"(Int. J. Fert., 27:134), 여러 주일에 걸쳐 분해되고, 유착을 아주 작은 범위로 축소시키며, 작용할 국소에 약물을 전달시켜 주어야 한다.

현재까지 발견되고 기술한 어느 것으로도 이런 요구조건을 모두 충족시키지 못하고 있다.

[합성 생분해성 중합체] 쿨카르니 등이 1966년 "외과이식을 위한 폴리락트산"(Arch. Surg., 93:839)에서 폴리락트산의 합성과 생분해성을 처음으로 보고한 이후에 생분해성 중합체에 대한 연구가 활발히 진행되었다.

몇몇 다른 중합체도 생분해되는 것으로 알려져 있는데 그 중에는 불안정한 척추 연결에 효과가 있는 폴리오르쏘 에스테르가 있다.(뚝 등, 1989, 중합체, 22: 3200; 헬러 등, 1990, 약물 전달계로서 생분해성 중합체)

분해되어 자연적으로 발생하는 물질로 되는 중합체를 형성하는 것이 바람직하므로 미야케 등이 1974년 생체에 사용될 용도로 보고한 바와 같이 폴리아미노산이 합성되었다. 이것은 알파 옥시산(또는 유산, 글리콜산)의 폴리에스테르(홀렌드 등, 1986, 조절발현, 4: 155-180)를 사용하기 위한 기초가 되며, 상기 폴리에스테르는 봉합수단(봉합선과 섬유)에서 약물 전달계의 {미국특허공고번호 제4,741,337호, 스미스 등; 스피리제스키 등, 1985, "염증 반응에 대한 하이드로코디손이 부착된 폴리(디엘-유산락티드)필름의 효과" J. Control, Rel. 2:197-203} 적당한 단량체를 선택하면 중합체가 분해되기 위해 필요한 시간을 줄일 수 있다. 결정성 여부에 따라서 분해속도가 달라지기도 한다. 이들 중합체가 비교적 소수성을 띠므로 올리고머 성분이 충분히 작아 물에 녹을 때에만 실제로 질량이 감소되기 시작한다. 그러므로 초기의 중합체 분자질량도 분해속도에 영향을 미친다.

수용성 중합체 성분을 포함하는 분해성 중합체는 다음에 상세히 설명되어 있다.

소니 등(1990)은 "폴리에스테르와 공중합하므로써 친수성이 증가되어 빨리 분해되는 di-유산락티드, 글리코산락티드 및 ε-카프로락톤의 삼중합체"(J. Biomed. Mater. Res. 24: 1397-1411)에서 유산락티드, 글리코산락티드, ε-카프로락톤을 PEG와 공중합하여 그것의 친수성과 분해속도를 증가시켰다. 카세이 등(1987)은 미국특허공고 번호 제4,716,203호에서 PEG양을 5-25%의 질량비로 변화시켜가며 PGA-PEG-PGA 공중합체를 합성하였다. 카세이(1987)는 미국특허공고번호 제4,716,203호에서 또 PEG양을 5-25%의 질량비로 변화시켜가면서 PGA-PEG 2중불록 공중합체 합성법을 제안하였다. 처칠(1985) 등은 미국특허 공고번호 제4,526,938호에서 PEG와 비슷한 합성물에 기초하여 5,000을 초과하여 MW와 교차 결합되지 않는 물질을 기술하고 있는데 이 물질은 물에 녹지 않는다. 쿤(1988)등은 J. Biomed. Mater. Res. 22: 993-1009에서 PLA-PEG 공중합체를 묘사하고 있는데, 이 공중합체는 물속에서 60%까지 부풀어오르고, 물에 녹지 않으며, 교차 결합되지도 않는다. 이 물질의 이런 성질때문에 이 물질은 수용성 중합체와 분해성 중합체로 구성되어 물에서 불용성이며, 60%까지 집단적으로 부풀어오르게 된다.

교차 결합된 젤라틴과 같이 분해가 되는 생물학적 물질이 알려져 있다. 이 물질에서 히알루론산이 교차되어 생약학적 실시예에서 분해성 팽윤 중합체로 사용된다(델라발레(1991)등의 미국특허공고번호 제4,987,744호, 미국특허공고번호 제4,957,744호"줄어든 혈전 형성에 대한 중합체적 생체 적합 물질의 표면변이" Polym. Mater. Sci.Eng. C2: 731-735)

[조절된 약물방출을 위한 생분해성 물질의 사용] 친수성을 띤 약물의 대부분은 생분해성 중합체를 유기용매로 녹인 용액 안에서 현탁액으로 분산되어 있다. 이런 환경에서 단백질과 효소분자의 형성은 수용매질에서의 형성과 다르다. 소수성 기질에서 분산된 효소는 항상 불활성 상태에 있으며 중합체가 분해되어야 주위의 수용액 속으로 방출된다. 더군다나 어떤 단백질은 중합체 안에서 단백질을 분산시키는데 사용된 유기용매와 접촉함으로써 성질이 반대로 변성되기도 한다.

[중합체합성, 분해 및 국소합성]해로울지 모를 산성을 띠는 분해 부산물이 국소적으로 집중되게 할 수 있는 중합체 약물이 짧은 시간 내에 방출되게 할 목적으로 현재 급속 분해 중합체가 제안되고 있다. 더군다나 지금까지 보고된 모든 생분해성 합성중합체는 유기용매에서 제조될 수 있으며, 모든 생분해성 중합체가 생체 내에서 중합하기에 적당하지 않은 조건에서 합성되었다. 따라서 정밀하게 형성되는 장벽, 형성된 물품이나 국소 조직에 생활성물을 전달할 수 있는 막으로서 이식할 수 있는 물질을 만드는 것이 불가능하다.

그러므로 본 발명의 목적은, 첫째, 생체에 적합하고, 생분해되며 생체 내에서 중합에 의해 빠르게 형성될 수 있는 하이드로겔을 제공하고 둘째, 수술이나 외래 진료중에 투약될 수 있고 조직 유착제, 조직 피막매체, 조직 지지체나 약물전달 매체로 중합될 수 있는 매크로머(macromer)용액을 제공하며, 셋째, 아주 짧은 시간 내에 매우 얇은 박막형태로 생체 내에서 중합될 수 있는 매크로머 용액을 제공하는 것이다.

[발명의 상세한 설명]본 발명은 생체에 적합하고, 생체 내에서 분해되며, 중합할 수 있고, 적어도 실질적으로 물에 녹는

매크로머에 관한 것으로 생체 내에서 다양한 용도를 갖는다. 매크로머는 적어도 하나의 물에 녹는 부분, 대개 가수분해에 의해 생분해되는 적어도 하나의 부분과 적어도 두개의 유리기-중합부분을 포함한다. 물론 실시예에 따라 수용성인 부분이 동시에 생분해성 부분이 될 수 있다. 매크로머는 빛에 민감한 화합물과 염료에 의해 생성된 유리기에 광중합될 수 있는 부분을 노출시킴으로서 중합된다.

매크로머에서 중합되는 부분은 적어도 하나의 분해 가능만 부분에 의해 나누어져 생체 내에서 균일한 분해를 촉진하고 있다. 이들 중합체는 몇 가지 변형이 있다. 예를 들어 중합부가 분해성 물질로 나뉘어지는 경우 중합부는 분해성 물질에 직접 연결될 수도 있고 물에 녹는 비분해성 물질을 매개로 간접적으로 연결될 수도 있다. 예를 들어 매크로머가 분해성 물질에 연결된 단순한 수용성 물질을 포함하는 경우 중합부의 한 쪽은 수용부에 연결되고 중합부의 다른 쪽은 분해부에 연결된다. 다른 실시예에서 수용부에 매크로머의 코어(core)가 연결되고 그 코어에 적어도 두개의 분해부가 연결된다. 적어도 두개의 중합부가 분해부에 연결되어 특히 중합된 겔 형태로 되어있는 중합부가 분해 과정 때 분리되게 된다. 이와 반대로 매크로머의 코어가 분해부로 형성되는 경우 적어도 두개의 수용부가 코어에 연결되며 각각의 수용부에 중합부가 부착된다. 생체 분해조건에서 겔 형성과 노출 후에 결과는 똑같아진다. 또 다른 실시예에서 매크로머는 수용성 중추(backbone)와 그 중추에 고정·연결된 분해부를 가질 수 있다. 적어도 두 중합부가 분해부에 연결되어 분해되어 분리되면 겔 생성물용액이 된다. 다른 실시예에서 매크로머의 중추가 비분해성 중추로 형성되고, 수용부가 분해성 중추에 접목되는 경우도 있다. 둘 이상의 중합부가 수용부에 연결된다. 이와는 달리, 중추가 별 모양을 하는 경우에 그 중추는 수용부나, 생분해부, 또는 생분해되는 수용부를 포함할 수도 있다. 이런 일반적인 실시예에서 별모양의 중추는 각각에 중합부가 연결된 수용부나 생분해부를 포함한다. 다시 중합부는 분해부에 의해 같은 위치에서 분리되어야 한다.

이런 매크로머로는 PEG-올리고 글리코릴-아크릴수지가 있다. 말단부를 적절히 구성하면 중합반응과 겔화반응이 빨라 지는데 에오신 염료와 같은 기폭제를 써서 자외선이나 가시광선에 잠시 노출시키면 중합반응이 발생하는 이점때문에 아크릴 수지가 사용된다. 폴리(에틸렌글리콜)이 코어를 이루는 물질로 사용되는데 이는 생체 적합성이 우수하고 친수성과 수용성이 높아지기 때문이다. 폴리 글리콜산과 같은 간단한 올리고나 폴리(α -하이드록시산)를 고리 연장에 사용하는데 이는 에스테르 결합의 가수분해에 의해 해를 지 않는 메타보라이트인 글리콜산으로 빨리 분해되기 때문이다.

비록 결정성이 우수한 폴리글리콜산이 물과 대부분의 유기용매에서 불용성이지만, 전체 매크로머는 수용성으로서 수성 조직액과 접촉하면 생체 분해되는 성분과 결합하여 빠르게 겔화될 수 있다. 이런 결합이 사용되면 수용성약물과 효소를 감싸고 균일하게 분산시켜 적당한 비율로 전달시키게 된다. 더군다나 이런 결합은 물에 녹지 않는 약물들의 미세한 서스펜션을 감싸기 위해 사용되기도 한다. 다른 고리 결합물로는 폴리락트산, 폴리카프로락톤, 폴리오르쏘에스테르, 폴리안하이드라이드가 자주 사용되며 폴리펩티드가 사용되기도 한다. 이런 중합체에는 이중합체, 삼중합체, 올리고 중합체를 포함하여야 한다.

상기 물질들은 특히 친수성 물질로 이루어진 약물의 송달조절에 쓸모가 있는데 이는 중합체의 수용부가 중합체와 결합된 물질에 물이 도달되도록 하기 때문이다. 더군다나 유기용매에 결합물질을 넣지 않고도 매크로머를 중합하는 것이 가능하다.

방출은 중합체 내분의 세공크기에 따라 분해가 되기 전에 중합체에서 물질로 확산되기도 하고, 분해가 될 때 중합체에서 물질로 확산되기도 하는데 이는 교차결합 사이의 분자질량과 교차결합밀도에 의해 결정된다. 결합물질의 겔의 운동저지 및 보호효과 때문에 결합물질의 비활성화가 줄어들며 다른 방출조절체계와 관련된 카타스트로픽 버스트(catastrophic burst) 효과가 일어나지 않는다. 결합물질이 효소일 때 기질이 겔을 흡수하도록 겔 농도가 정해지면 효소가 결합되는 동안 효소가 기질에 노출되게 된다. 중합체가 분해되면 에스테르 결합이 점차적으로 가수분해됨으로써 생체내의 유리 거대분자(free macromolecules)가 조절 방출되게 된다.

이들 매크로머의 장점은 수용성 환경에서 신속하게 중합할 수 있다는 점이다. 그러므로 정확하게 형성되고 반투과성이며 생분해되는 막이 생체 내에서 조직 위에 형성됨으로써 생분해 장벽과, 살아있는 세포나 생물학적 한성물의 운반체 및 수술유착제로서 역할을 수행하는 것이다. 특별한 실시예에서, 매크로머가 기폭제를 가진 조직에 작용하여 초박막을 형성하도록 중합된다.

이런 방법은 혈관과 같이 레스테노시스(restenosis)에 관련된 문제가 있는 조직 관강(管腔)의 내부에 막을 형성하고, 유착이 형성되지 않게 하는 수술을 하는 동안 조직 벽을 형성하는데 쓸모가 있다.

실시예에서는 이 매크로머와 중합체를 사용하여 쥐 맹장과 토끼 자궁각 모델에서 수술 후 유착이 억제되는 것을 증명할 것이다. 상기 중합체는 이식된 샘플에 나타난 최소한의 섬유증식으로부터 알 수 있듯이 생체적합성이 우수하다. 모델에 대한 하이드로겔은 수용성 선구물질에 장파자외선(LWUV)을 잠깐 노출시킴으로서 그 위치에서 겔화되며 조직 위의 단백질 및 글리코사미노글리칸 성분과 하이드로겔의 상호 관통하는 연결이 형성된다. 분해성 하이드로겔은 그 자체만은 물론 t-PA와 결합할 때 유착을 억제하는데 매우 효과적이다.

[도면의 간단한 설명]제1(a)도는 본 발명에 따른 매크로머의 도해도로, — 는 PEG 같은 수용성.

~~~~~는 폴리글리콜리드 같은 가수분해성 연장줄기.

=====는 아크릴레이트 같은 광중합성 말단이나 부고리.

----는 히알уро네이트 같은 수용성 및 가수분해성 부분이며, 제1(b)도는 광중합도의 계산값에 대한 광중합도의 NMR 측정값의 그래프.

제2(a)도는 PEG 18.5K-글리콜리드 디아크릴레이트(18.5KG)로 코팅 처리된 커버글라스 위에서 6시간동안 배양된 사람의 표피 섬유아세포.

제2(b)도는 PEG로 코팅 처리되지 않은 커버글라스 위에서 6시간동안 배양된 사람의 표피 섬유아세포.

제3(a)도는 글리콜라이드 결합(1KG) 하이드로겔을 가진 PEG 1K(1000분자량 PEG) 글리콜리드 디아크릴레이트에서 PBS로 BSA의 방출도를 나타낸 그래프.

제3(b)도는 PEG 18.5K-DL-락티드 테트라아크릴레이트(18.5KL)에서 PBS로 리소좀의 방출도를 나타낸 그래프.

제4(a)도는 PEG 1K 락티드 디아크릴레이트(1KL) 하이드로겔에서 활성재결합 tPA의 방출도를 나타낸 그래프.

제4(b)도는 PEG 1K 글리콜리드 디아크릴레이트(1KL) 하이드로겔에서 활성재결합 tPA의 방출도를 나타낸 그래프.

제4(c)도는 PEG 18.5K- 글리콜리드 디아크릴레이트(18.5KG) 하이드로겔에서 활성 재결합 tPA의 방출도를 나타낸 그래프.

제5(a)도는 조절로 사용되는 토끼 자궁각의 평면도. 66%의 유착을 가지고 변형된 각 해부로 각이 서로 접혀져 있다.

제5(b)도는 광중합된 생분해성 하이드로겔 PEG 18.5KL로 치료된 토끼 자궁각의 평면도. 각 해부도는 정상으로 유착 대가 보이지 않는다.

제6(a)도는 손상된 후 치료를 받지 않은 혈관의 ESEM(환경 스캐닝 전자현미경 사진).

제6(b)도는 손상된 후 중합제로 코팅된 혈관의 ESEM.

[실시예]매크로머에서 형성되는 수용성, 생분해성 중합체는 아래에 상술하는 바와같이, 매크로머는 생분해부와 수용부는 물론 여기에 라디칼 기폭제에 의해 중합될 수 있는 적어도 두개의 중합부를 포함하며, 가시광선이나 장파자외선을 사용하여 적절하게 광중합된다.

[매크로머]일반적으로 매크로머는 수용액이나 물에 디메틸설폭시드가 첨가된 수용액에 녹는 중합체이다. 매크로머는 제1도에 도시된 바와 같이 가수분해가 일어나는 생분해부, 수용부와 적어도 두개의 중합부등 세 부분으로 나누어진다.

제1도의 A구조에서 매크로머는 수용성분(—)과 이에 연결된 수용 및 가수분해성분(----)을 가지고, 각 성분은 끝에 각각 하나의 중합성분(====)을 갖는다. 구조 B는 수용성분(—)이 코어를 이루고, 이 수용성분(—) 양 끝단에 각각 분해 또는 가수분해성분(~~~~)이 연결되며, 이 가수분해성분(~~~~) 양 끝단에 중합성분(====)이 연결된다. 구조 C는 중심에 분해 또는 가수분해성분(~~~~)이 있고, 그 양끝에 각각 수용성분(—)이 연결되며, 다시 그 양끝에 중합성분(====)이 연결된다. 구조 D는 중심이 수용성분(---)이 있고, 이 수용성분(---)의 여러 끝가지에 가수분해성분(~~~~)이 연결되며, 각 가수분해성분(~~~~)에는 중합성분(====)이 연결된다. 구조 E는 중심에 생분해성 가수분해성분(~~~~)이 있고, 이 분해성분(----)의 세 끝가지에는 수용성분(—)이 연결되며, 각 수용성분(—)에는 중합성분(====)이 연결된다. 구조 F는 중심에 긴 수용 및 가수분해성분(----)이 있고, 그 끝단에 중합성분(====)이 연결된다. 구조 G는 중심에 수용 및 가수분해성분(----)이 있고, 그 양 말단에 각각 가수분해성분(~~~~)이 연결되며, 다시 그 양끝에 중합성분(====)이 연결된다. 구조 H는 중심에 수용 및 분해 또는 가수분해성분(----)이 있고, 그 양 말단 및 끝가지에 중합성분(====)이 연결된다. 구조 I는 중심에 원형으로 수용성분(—)이 있고, 그 수용성분(—)의 끝가지에 다시 수용성분(—)이 연결되며, 그 끝단에 각각 가수분해성분(~~~~)이 연결되고, 다시 그 끝단에 중합성분(====)이 연결된다.

제7도에서 구조 J는 중심에 원형으로 수용성분(—)이 있고, 그 수용성분(—)의 끝가지에 분해성분(~~)이 연결되며, 다시 그 끝단에 중합성분(===)이 연결된다.

제7도에서 도시된 구조는 단지 실시예일 뿐으로 본 발명의 목적에 적합한 많은 다른 구조로 만들 수 있다.

이하에서 “적어도 실질적으로 수용성”이란 말이 사용되는데, 이는 수용액이나 디메틸설폭시드같은 유기용매를 약간 포함하는 약 1g/100ml의 용해도를 가짐을 의미한다. “중합성(Polymerizable)”은 그 부위에서 아크릴레이트형 분자의 탄소 이중결합과 같이 공유결합이 형성되어 매크로머 상호결합을 이루는 것을 말한다. 이런 중합은 특정한 염료가 화합물의 광흡수에서 발생하는 자유 작용기에 의해 기록되는 특징이 있다.

바람직한 실시예에서 하이드로겔은 생분해되면서 중합되는 매크로머에서 발생되며 상기 매크로머는 코어와 그 코어의 양 말단에 연결된 연장성분 및 그 연장성분에 연결된 말단 성분으로 구성되어 있다. 코어는 친수성 중합체나 올리고머이고, 연장 성분은 생분해되는 중합체나 올리고머이며, 말단성분은 매크로머를 교차 연결시킬 수 있도록 올리고머, 이중합체, 단위체(모노머)로 이루어진다.

실시예는 약 400~30000Da인 친수성 폴리(에틸렌글리콜)올리고머를 포함하고, 각 연결성분은 분자량이 약 200~1200Da인 생분해성 폴리(알파-하이드록시산)를 포함하며, 각 말단성분은 공중합체 사이에 교차결합과 중합이 가능하고 분자량이 50~200Da이며, 탄소 이중결합이 있는 아크릴레이트형 단량체나 올리고머를 포함한다.

실시예를 더욱 상세히 기술하면, 코어는 분자량이 약 8,000~10,000Da인 폴리(에틸렌글리콜)올리고머로 구성되고, 연결성분은 분자량이 약 200Da인 폴리(유산)올리고머로 구성되며, 말단성분은 분자량이 약 100Da인 아크릴레이트 성분으로 구성된다.

본 발명에 관련된 기술분야의 당업자라면 코어, 연결성분 및 말단성분이 균일할 수도 있고 비교적 짧은 고리나 개별적 성분으로 구성되어, 최종 하이드로겔의 성질을 특정하면서 매크로머의 각 부분에 독특한 성질을 부여할 수도 있다는 것을 알 수 있다. 아래에 상술하는 올리고머의 길이는 두 배에서 여러 배로 변하므로 매크로머의 성분을 매크로머와 구별하기 위해 “이” 또는 “삼”등의 용어를 사용한다.

[수용부] 실시예에서 코어는 수용성으로 폴리(에틸렌글리콜); 폴리(산화에틸렌); 폴리(비닐알코올); 폴리(비닐피롤리돈); 폴리(비닐피롤리돈); 폴리(에틸옥사졸린); 폴리(에틸렌옥사이드)-폴리(프로필렌옥사이드)블록공중합체; 히알루론산, 덱스트란, 헤파란 설페이트, 콘드로이틴설페이드, 헤파린이나 알긴산염과 같은 다당류나 탄수화물, 젤라틴, 콜라겐, 알부민, 오발부민과 같은 단백질; 이나 폴리아미노산으로 구성된다.

[생분해부] 생분해부는 그 위치에서 적절히 가수분해될 수 있다. 예를 들어 가수분해성분은 글리콜리드, 락티드, ε-카프로락톤, 다른 하이드록시산과 인체에 무해하거나 정상적인 대사산물로 존재하는 물질로 생성하는 생물학적 분해성 중합체로 이루어진 중합체와 올리고머이다. 적절한 폴리(α-하이드록시산)는 폴리(글리콜산), 폴리(DL-유산)와 폴리(L-유산)이다. 폴리(아미노산), 폴리(안하이드라이드), 폴리(오르쏘에스테르), 폴리(포스파진)와 폴리(포스포에스테르)도 유용한 물질이다. 폴리(ε-카프로락톤), 폴리(δ-발레로락톤)와 폴리(감마-부티로락톤)도 유용하다.

생분해부는 하나에서 실제로 물에 녹지 않는 생성물을 얻을 수 있는 값까지 어느 정도의 중합을 갖는다. 그러므로 단량체(모노머), 이중합체, 삼중합체, 올리고중합체, 중합체가 사용된다.

생분해부는 중합체가 모노머(단량체)에서 에스테르, 펩티드, 안하이드라이드, 오르쏘에스테르, 포스파진과 포스포에스테르 결합과 같이 생분해되기 쉬운 결합을 사용하여 형성된다.

[중합부] 중합부는 대부분 가시광선과 장파자외선으로 자유작용기가 발생하여 광기폭제에 의해 중합된다. 바람직한 중합부는 아크릴레이트, 디아크릴레이트, 올리고아크릴레이트, 메싸크릴레이트, 디메싸크릴레이트, 올리고메싸크릴레이트나 다른 생물학적으로 수용되는 광중합물질로 이루어진다.

다른 기폭화약품이 광기폭제와 더불어 사용될 수 있다. 예를 들어 이들 기폭제에는 중합부로 사용되는 단량체를 갖는 이소시안산염이나 이소티오시안산염과 함께 물과 아민.기폭제를 포함한다.

[광기폭제와 촉매]유용한 광기폭제가 세포독성(cytotoxicity)없이 대개 수초에서 기껏해야 수분동안 짧은 시간 내에 매크로머의 자유작용기 발생중합에 의해 기록되기 위해 사용된다. 장파자외선이나 가시광선을 위한 기폭제로 사용되는 바람직한 염료로는 에틸에노신, 2,2-디메톡시-1-2페닐 아세토페논, 다른 아세토페논 유도체와 캄포르퀴논이 있다. 모

든 경우에 교차결합과 중합은 2,2-디메톡시-1-2페닐 아세토페논, 다른 아세토페논이나 에틸에오신(10

$^{-4}$ 에서  $10^{-2}M$ )의 결합물과 트리에탄올 아민(0.01에서 0.1M)과 같은 광합성 자유작용기 중합 기폭제에 의해 매크로머 중에서 기폭된다.

광기폭제의 선택은 주로 광중합부에 달려있다. 예를 들어 매크로머가 적어도 하나의 탄소-탄소 이중결합을 포함할 때 염료에 의해 빛이 흡수되어 염료가 삼중상태(a triplet state)가 되며, 삼중상태는 아민과 반응하여 중합을 기폭시키는 자유작용기(free radical)를 형성한다. 이런 용도로 흔히 쓰이는 염료는 에오신 염료와 2,2-디메틸-2-페닐 아세토페논, 2-메톡시-2-페닐아세토페논과 캄포르퀴논과 같은 기폭제가 있다. 그런 기폭제를 사용하여 장파자외선이나 약 514nm의 레이저광선에 의해 본래의 위치(in situ)에서 공중합체가 중합된다.

중합의 기폭에는 파장이 약 200-700nm(파장이 320nm이상인 장파자외선이나 가시광선이 바람직하며, 더욱 엄밀하게 약 514nm나 365nm의 빛이 사용됨)의 빛이 조사되는 것이 뛰어나다.

중합을 기폭시키기 위해 사용되는 몇 가지의 광산화성 및 광환원성 염료가 있다.

이런 염료에는 아크리브라린과 같은 아크리린 염료, 티오닌과 같은 티아진 염료, 로즈벵갈 같은 크산틴염료, 메틸렌블루 같은 페나진 염료 등을 포함한다. 이들 염료들은 트리에탄올아민과 같은 아민, RSO

$_2R^1$ 과 같은 황화합물, 이미다졸과 같은 헤테로사이클, 에노레이트, 유기금속화합물 및 시-페닐글리신과 같은 화합물 등으로 된 코카탈리스트(cocatalyst)와 함께 사용된다. 다른 기폭제로 캄포르퀴논과 아세토페논 유도체가 포함된다.

열중합 기폭제 시스템도 사용된다. 37°C에서 불안정하고 신체온도에서 자유작용기 중합을 기폭시키는 이런 시스템은 테트라아메틸에틸렌디아민 성분이 있거나 없는 과황산칼륨(K

$_2S_2O_8$ ), 트리에탄올아민 성분이 있거나 없는 벤조일퍼옥사이드[(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO)<sub>2</sub>O<sub>2</sub>], 와 중아황산나트륨이 함유된 과황산암모늄을 포함한다.

[매크로머의 실시예][외과수술에서의 유착 억제]바람직한 실시예는 환자가 수술을 받은 후 유착이 형성되는 것을 줄이는 방법이다. 이 방법은 환자의 손상된 조직 표면을 광감수성 자유 작용기 중합 기폭제의 수용액과 이미 상술한 매크로머 용액으로 피복하는 것이다. 피복된 조직표면은 매크로머를 중합하기에 충분한 빛에 노출된다. 광감수성 자유작용기 중합기폭제는 단일화합물(예를 들어 2,2-디메톡시-2-페닐 아세토페논)이나 염료와 코카탈리스트의 혼합물(예를 들어 에틸 에오신과 트리에탄올 아민)일 수도 있다.

[약물의 송달조절]두 번째의 바람직한 실시예는 생물학적 활성물을 환자의 조직표면에 국소적으로 작용시키는 방법이다. 그 방법에는 피복제를 형성하기 위해 상기에서 기술한 광감수성 자유작용기 중합기폭제와 매크로머가 함유된 수용액을 생물학적 활성물에 섞는 과정이 포함된다. 조직표면은 피복제로 피복되고 충분한 빛이 조사되어 매크로머를 형성한다. 생물학적 활성물은 단백질, 탄수화물, 핵산, 무기생물학적 활성분자와 유기생물학적 활성분자를 포함하는 여러 물질들이 포함될 수 있다. 예를 들면 효소, 항생제, 항신성형제(antineoplastic agent), 항체, 신경전달물, 정신활성약, 생식기관 영향제와 엔티센스 올리고뉴클레오타이드 같은 올리고뉴클레오타이드 등이 있다.

약물의 송달조절을 위한 여러 방법 중에서 매크로머는 생물학적 활성물과 중합되어 생물학적 활성물을 포함하는 마이크로스피어(microsphere)나 나노파티클(nanoparticle)을 형성한다. 매크로머, 광기폭제와 캡슐화된 약물이 섞여져서 수성 혼합물이 된다. 혼합물의 입자는 표준화된 기법으로 형성되는데 예를 들면, 유상액(emulsion)을 형성하기 위해 기름 속에서 작은 입자를 형성하거나, 노즐을 사용하여 기름 속에서 작은 입자를 형성하거나, 아니면 노즐을 사용하여 공기 중에서 작은 입자를 형성한다. 서스펜션과 미립자에는 매크로머가 광중합되기에 적당한 빛이 조사된다.

[조직유착]중합체는 환자의 조직표면을 유착시키기 위한 방법에도 쓰인다. 매크로머는 광기폭제나 광기폭제/코카탈리스트(cocatalyst) 혼합물과 혼합되어 수용혼합물을 형성하며, 이 혼합물은 조직유착이 생겨야 할 조직표면에 작용하게 된다. 조직표면은 조직접합을 형성하면서 유착이 생길 조직과 접촉하게 된다. 조직접합에 빛이 조사되어 매크로머가 중합된다.

[조직피복]상기 매크로머에 대한 특히 바람직한 실시예에서 박막피복이 조직표면, 특히 혈관 같은 조직의 관강(lumen)에 적용된다. 이러한 피복은 혈관 간섭 후에 레스테노시스(restenosis), 돌발 리클로저(reclosure)나 바소스파즘(vasospasm)에 사용된다. 광기폭제가 조직표면에 적용되어 조직과 반응, 흡수, 결합하고, 결합되지 않은 광기폭제를 회석과 세척으로 제거하며, 매크로머 용액이 적용되어 중합된다. 아래에 상술하듯이 이 방법은 두께가 1~500 마

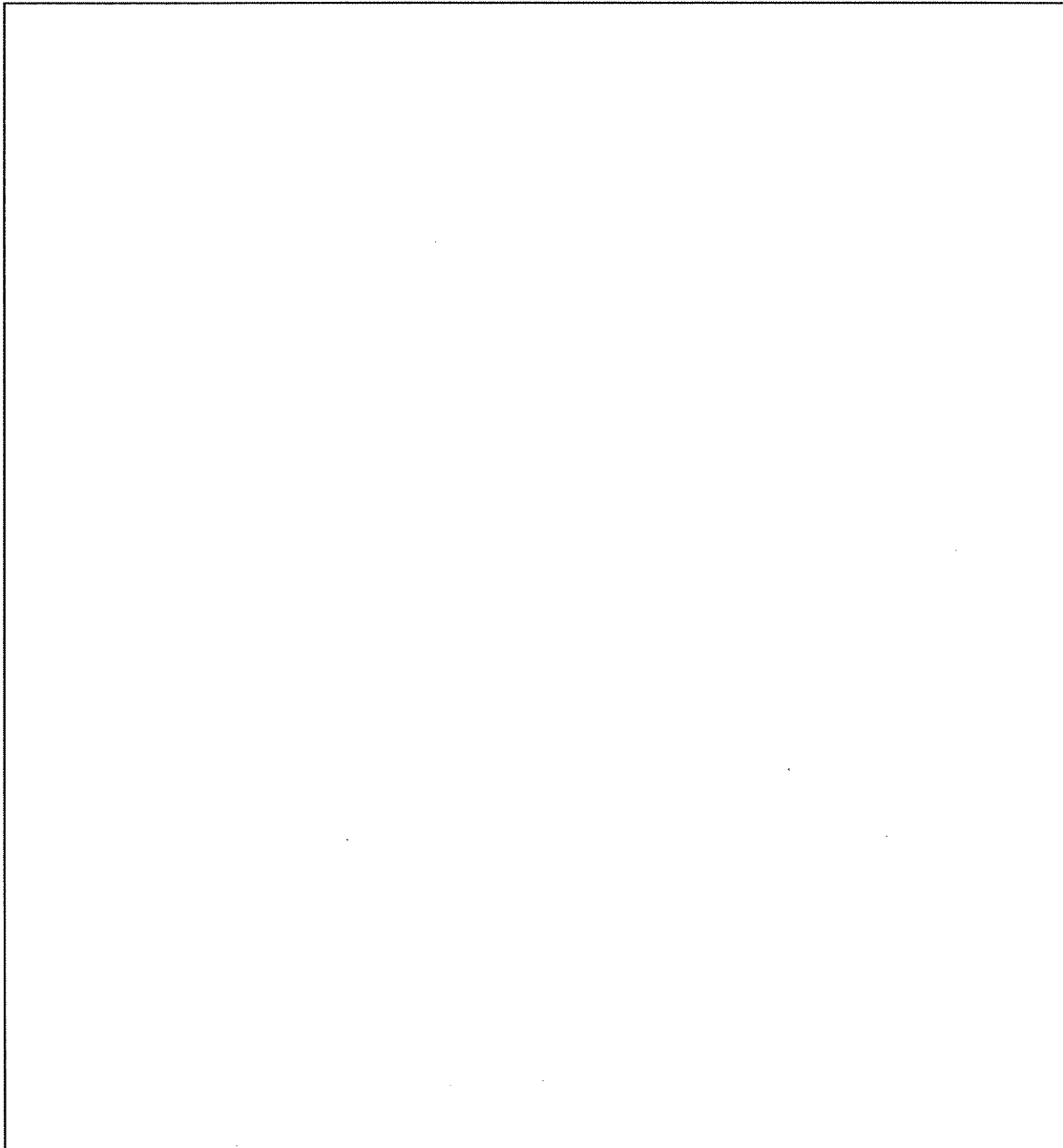
이크론(20 마이크론이 적절함)인 균일한 중합 피복을 형성할 수 있으며, 혈전중이나 국소 염증이 생기지 않는다.

[조직 지지대]매크로머는 또 몸체 안에 형성체를 형성하며 조직 지지대를 형성하는데 사용된다. 상기 지지대는 예를 들어 출혈하는 기관에 대한 밀봉제, 뼈의 결합에 대한 밀봉제 및 혈관맥류에 대한 공간충진제등을 포함한다. 더군다나 상기 지지대는 기관, 맥관이나 관을 조절시간동안 특정위치에 고정시키는 협착을 포함한다.

다음이 바람직한 실시예 및 본 발명의 용도를 설명하며 이 실시예는 청구범위에서 달리 기술하지 않는 한 발명의 범위를 제한하지는 않는다. 실시예는 현재 이해되는 발명을 충족시키는 최적조건을 기술하고 있다.

표 1에는 실시예에서 합성되거나 사용되는 여러 가지 매크로머의 기호와, 중심부에 있는 PEG의 분자량에 대한 성분비, 그리고 분해성 코모노머(comonomer)의 중합도가 나타나 있다.

[표 1]



[실시예 1][광중합되고 생분해되는 하이드로겔의 합성][기질이 PEG인 하이드로겔]기질이 PEG이고 생분해되는 하이드로겔은 수용성 매크로머를 단시간에 레이저나 자외선 중합하여 형성된다. 매크로머는 PEG의 말단에 글리콜산, 올리고머를 더하고, 그 말단에 아크릴 말단 군을 덧붙임으로써 합성된다. 매크로머의 PEG부는 수용성을 띠며 PEG부에 대한 중합으로 세포 유착이 없는 하이드로겔을 형성한다.

글리콜산 올리고머는 중합체에서 가수분해부를 형성하며 아크릴 말단성분은 빠른중합과 매크로머의 젤라틴화가 가능하게 한다.

합성을 위한 준비단계로 글리콜리드(듀폰)나 DL-락티드(알드리취)는 에틸아세테이트로 재결정화된다. 여러 분자량의 PEG 올리고머(흙중류나 폴리사이언스)는 사용되기 전에 110°C 진공상태에서 건조된다. 모든 다른 화합물은 시약 수준으로 쓰이며 정제하지 않고 사용된다.

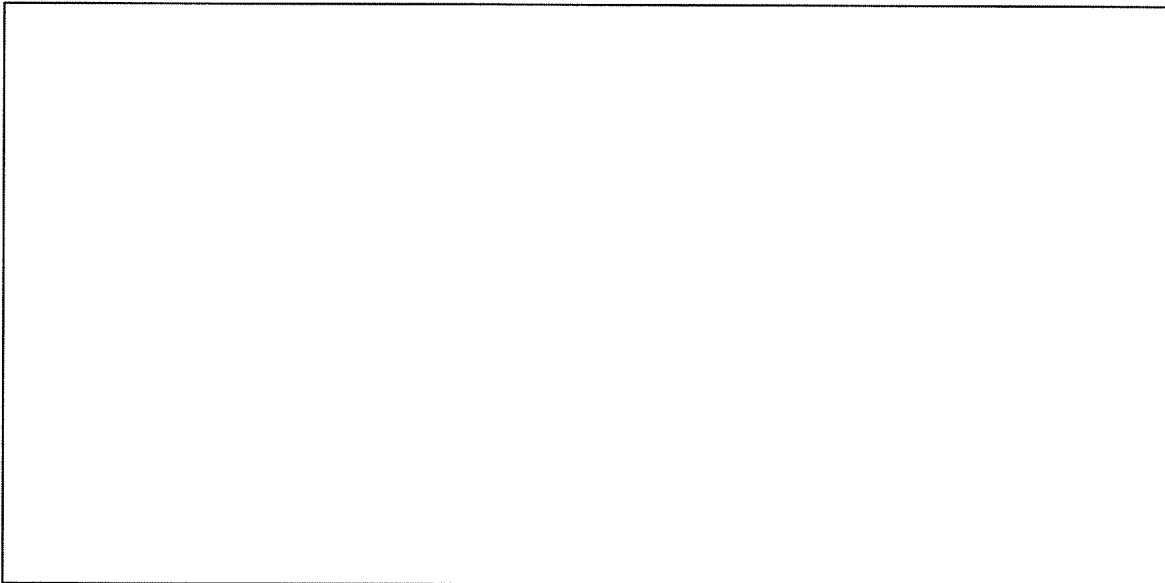
[매크로머 합성]250ml 원형 플라스크를 진공 및 건조 아르곤이 순환되는 분위기에서 화염건조시킨다. PEG(분자량 70,000) 200ml, 크실렌 150ml와 스타너스 옥토에이트 10μg을 플라스크에 넣는다. 플라스크를 아르곤 분위기에서 60°C로 가열하여 PEG를 녹인 후 상온에서 냉각시킨다.

글리콜리드 1.16g을 플라스크에 넣고 16시간동안 반응혼합물을 역류시킨다. 냉각하여 공중합체를 분리시킨 후 여과시켜 다시 회수한다. 이 공중합체(10K PEG-글리콜리드)는 다음 반응에 직접 사용된다. DL-락티드나 ε-카프로락톤을 글리콜리드 대신에 사용하고 PEG의 분자량을 변화시키면서 다른 중합체들도 유사한 방법으로 합성된다.

[광감수성 올리고머(매크로머)의 합성]10K-PEG 글리콜리드 공중합체 19g를 메틸렌글리콜리드 150ml로 녹인 후 아크릴로일 클로라이드 1ml와 삼에틸아민 1.2ml와 함께 아르곤 대기 중에서 12시간동안 역류시킨다. 고체상태의 삼에틸아민 염산염을 여과법으로 분리시킨 후 많은 양의 헥산에 그 여과물을 첨가하여 중합체를 석출시킨다.(양 말단에 아크릴레이트가 연결된) 중합체를 메틸렌 클로라이드와 헥산에서 각각 용해와 석출을 반복하여 고순도로 형성시킨다.

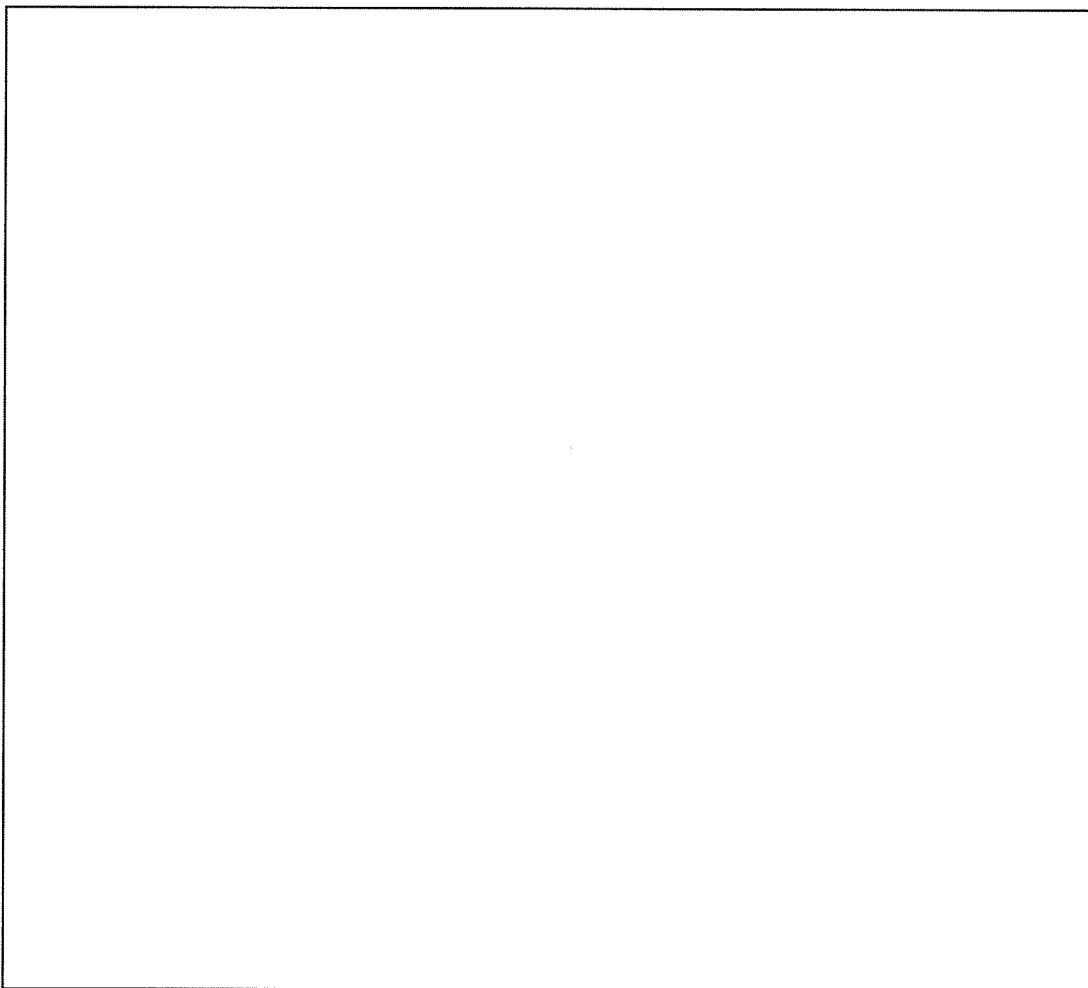
표 2는 합성된 매크로머를 나열한 것이다. 글리콜리드 고리연결성분의 중합도는 낮아서 모든 중합체가 고리당 대략 10개의 에스테르군이나 고리말단당 약 5개의 에스테르군을 가진다. 이 중합체가 광중합될 때 교차결합된 3차원 결합이 얻어진다. 그러나 각 결합에서 각 고리 연결부는 각 말단에서 분해·분열되는 하나의 에스테르 결합이 필요하다. 이 에스테르가 분열되면 고리가 생리액에 녹게 되므로 이식부에서 제거된다. 이렇게 얻어지는 가수분해 생성물인 PEG와 글리콜신은 수용성이며 그 독성이 매우 낮게 된다.

[표 2]합성 매크로머



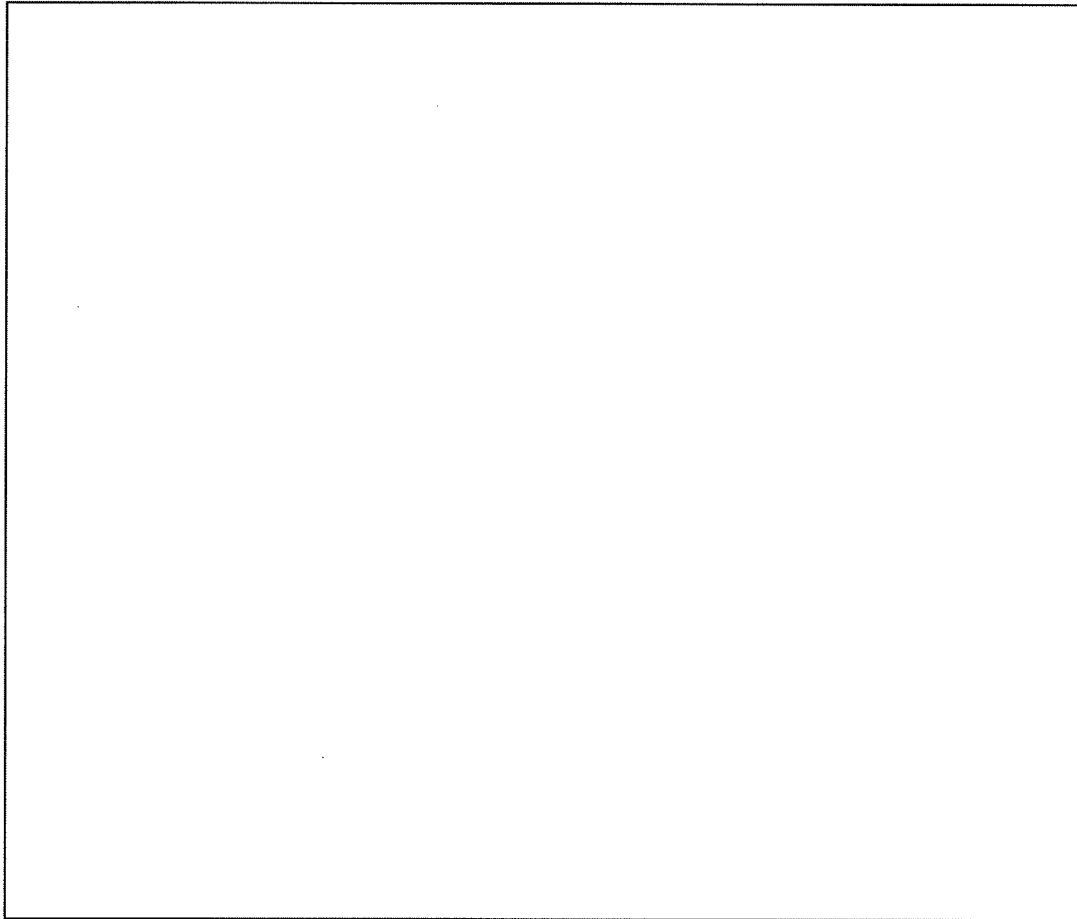
단위 올리고머 고리당에는 적은 수의 글리콜산이 존재하므로 광교차결합(photocrosslinkable)될 수 있는 전중합체의 용해성은 주로 중심부 PEG고리에 의해 결정된다. PEG가 녹는 물과 메틸렌 클로라이드에서 PEG 중심부의 분자량이 1,000달톤이상이면 매크로머의 용해도는 우려하지 않아도 된다. 합성된 전중합체의 용해도를 표 3에 나타내었다.

[표 3]



매크로머의 물에 대한 용해도가 보유할 수 있는 치환도를 결정하기 위해 DL-락티드의 다른 중합도를 갖는 PEG고리가 합성된다. 결과는 표 4에 나타내었다. 친수성 PEG고리를 소수성 DL-락툴이나 아크릴레이트로 약 20% 이상 치환하면, 매크로머가 비록 메틸렌클로라이드와 같은 유기용매에서는 여전히 용해되더라도, 물에서는 용해되지 않게 된다.

[표 4]



[광중합]매크로머는 빠른 겔화를 유도하는 단위고리 당 두개의 아크릴 이중결합을 가진 자유작용기 기폭제를 사용하여 겔화된다. 3 $\mu$ l의 기폭제용액(n-비닐피롤리돈 1ml당 2,2-디메톡시-2-피닐-아세토페논 300mg)을 포함하며 염화나트륨이 완충제인 HEPES에 여러 가지 분해성 중합체의 23% w/w용액이 사용된다. 100Mℓ의 용액이 커버그라스 위에 놓여지고 낮은 광도의 장파자외선(LWUV)램프(블랙레이, 투광기를 가진 3-100A모델)로 조사되었다. 겔화되기에 필요한 시간도 아래에 기술되어 왔다. 이 시간은 대개 10초가량 된다. 이것은 매우 중요한데 이들 반응은 공기 중에서 진행되며(자외선으로 기폭되는 광중합은 불활성가스 분위기보다 공기 중에서 느리게 진행된다.) 이동형 저광도 장파 자외선(LWUV)을 조사광선으로 사용하기 때문이다.

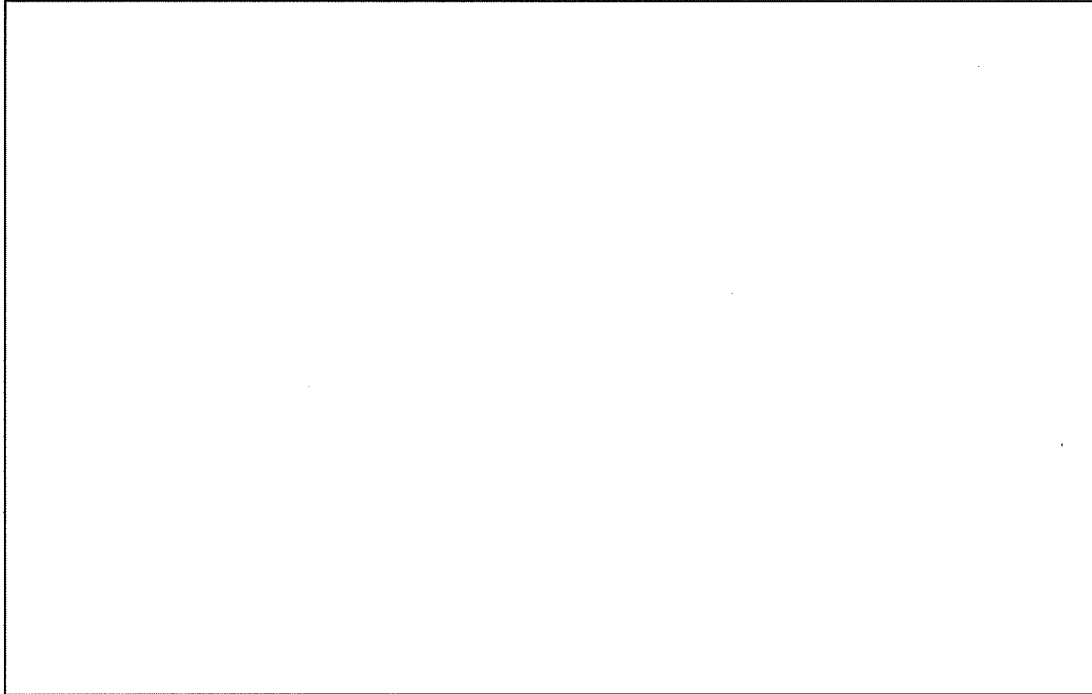
산소는 중식억제물을 형성하므로써 종종 자유작용기 반응을 억제하므로 중합을 천천히 진행시킬 것 같지 않다. 이런 빠른 중합반응은 생체 내에서 겔화반응이 요구되는 실시예에서 특히 유용하다. 이렇게 빠르게 겔화되는 것은 매크로머 상에 비교적 소수성 중합성분들 사이에서 미셀(micelle)과 유사한 구조를 형성하여 수용액에서 중합성분의 국소농도가 증가하고 이로써 중합율이 증가하게 된다.

레이저 가시광선도 중합에 유용하다. 광도를 낮추고 노출시간을 줄이면 발색단이 없으므로 빛이 강하게 흡수되지 않아 레이저 가시광선이 살아있는 세포에 무해하도록 만들 수 있다. 레이저 광선은 광섬유로 전송할 수 있으며 매우 작은 영역에 초점을 맞출 수 있다. 이런 빛을 사용하여 매우 좁은 지역에 급속도로 중합을 할 수 있는데, 몇몇 중합체에 대한 겔화시간을 표 5에 나타내었다. 각각의 경우에 23%w/v 광감수성 올리고머용액 0.2ml가 에틸에오신(10

<sup>-4</sup>M)과 삼에탄올 아민(0.01~ 0.1M)과 혼합되고 그 용액은 출력력이 0.2~0.5w/cm

<sup>2</sup>인 아르곤 이온레이저(아메리칸 아르곤 이온 레이저 모델 950, 파장 514nm)로 조사된다. 빔의 크기가 직경 3mm로 커지고, 모형은 겔화반응이 시작될 때까지 천천히 주사된다.

[표 5]



\* 개시제: 2,2-디메톡시-2-페닐아세토펜, 농도 990ppm: PBS내23% 모노머 용액 0.2ml

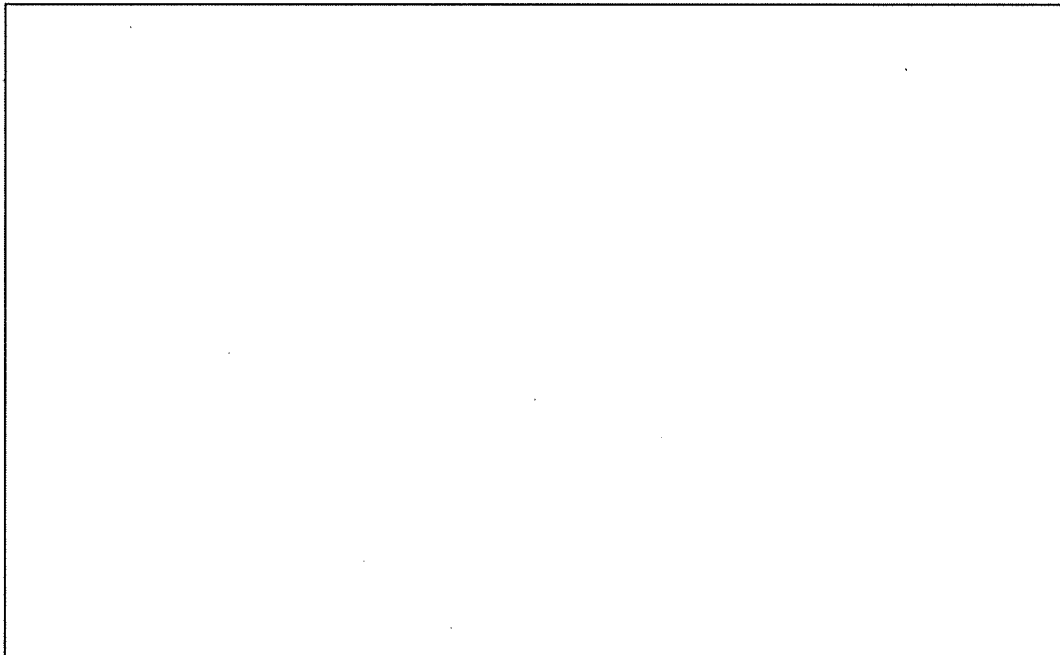
\*\* 파장이 514nm인 아르곤 이온 레이저 출력 3w/cm<sup>2</sup>: 에틸로에오신, 삼에탄올아민 개시제 : PBS내 23% 모노머 용액 0.2ml

[생분해도]중합체 결합의 생분해 여부는 많은 생의학 실시예에서 중요하다. 폴리(글리콜산)와 폴리(DL-락트산)의 분해는 문헌에 잘 나타나 있다. 분해는 주로 에스테르 결합이 가수분해되어 생기며 반응은 2차 반응이고 수소이온 농도에 크게 좌우된다. pH 10에서 반응속도는 pH 7.2의 반응속도보다 7배 빠르다.

이런 간단한 생분해는 놀라운 것인데 왜냐하면 폴리( $\alpha$ -하이드록시엑시드에스테르)가 소수성이고 물에 거의 녹지 않기 때문이다. 그러므로 중합체 기질이 물에 접촉하는 것은 극히 제한되어 있다. 그러나 그 결합이 물에 의해 불려지는 하이드로겔이기 때문에 결합부에서 에스테르 결합은 항상 물이 접촉하게 되는 것이다. 이 때문에 이 겔의 표면만 분해되지 않고, 겔 전체가 균일하게 분해되게 된다.

표 6에 이 결합의 가수분해 자료를 나타냈는데 기록된 시간은 겔 60 mg이 pH 7.2~ 9.6에서 12시간 내에 용해된다. 18.5K겔은 pH 9.6에서 2.5시간 내에 용해되는 반면, 18.5KCO겔은 3일이 지나도 용해되지 않는데, 이는 락토일, 글리콜로일이나  $\epsilon$ -카프로락토일에스테르 부분이 이 결합의 분해도에 영향을 끼침을 나타낸다. 또한 18.5KG겔이 HKG겔보다 더 빨리 가수분해된다. 이는 4KG겔이 교차연결밀도가 높고 친수성이 작기 때문이다.

[표 6]



[매크로머의 특징] 전중합체의 FTIR 스펙트럼을 DIGILAB 모델 FTS 15/90으로 기록했다. 1110cm

$^{-1}$ 에서 흡수(PEG의 고유 C-O-C흡수)되므로 PEG성분이 존재하는 것을 알 수 있다. 1760cm

$^{-1}$ 에서 강한 흡수는 글리콜에스테르의 존재를 나타낸다. 3400cm

$^{-1}$ 근처에서 하이드록실 군의 흡수선이 없고, 1590cm $^{-1}$ 에서 약한 아크릴 이중결합-흡수선이 존재하므로 아크릴 이중결합이 말단성분에 존재함을 알 수 있다.

500MHz 양성자와 125MHz 탄소동위원소 13 스펙트럼이 GE 500기에 기록되었다. PEG성분의 메틸렌(CH

<sub>2</sub>)에 의한 4.9ppm에 매우 강한 피크, 글리콜 에스테르성분에 의한 5.09ppm의 피크와 5.8ppm에서 아크릴 양성자 단선을 양성자 NMR에서 쉽게 관측할 수 있다. 다른 공중합체에서 PEG성분과 글리콜산 성분의 분자량 계산 값은 표 2에 나타내었다. 글리콜산에서 169.39ppm 카르보닐 피크와 탄소동위원소 13NMR에서 PEG의 36.5ppm 메틸렌 카본 피크는 이 중합체의 보고된 화학성분과 일치한다.

미분주사열량측정기(Perkin Elmer DSC-7)를 사용하여 열전도에 대한 올리고머의 특징을 발견한다. 올리고머를 분당 20°C씩 올라가면서 40°C에서 200°C까지 가열하는데, 아마 이때 중합이 일어날 것이다. 그런 다음 분당 60°C의 비율로 -40°C까지 냉각시키고 다시 분당 20°C의 비율로 200°C까지 가열한다. 생분해되는 18.5K PEG 글리콜리드 테트라아크릴레이트(18.5K)의 첫 번째 주사는 비분해성 18.5PEG 테트라아크릴레이트(18.5KCO) 주사와 비유된다. 18.5KG는 -2°C에서 유리전이(glass transition)가 나타나는 반면 18.5KCO는 전이가 나타나지 않는다. 제한된 범위에서 결정화하는 작은 수의 글리콜산 중합이 있기 때문에 140°C에서 녹는 피크점이 작게 생긴다.

PEG의 녹는점이 18.5KCO인 경우의 60.7°C에서 18.5 KG인 경우의 57°C인 낮은 온도쪽으로 이동한다. 이것은 아마도 글리콜산 결합이 존재하여 PEO 결정구조가 찌그러지기 때문일 것이다. 올리고머가 아마 중합되었을 제3사이클에서 글리콜리드 성분에 대한 Tg와 Tm전이가 나타나지 않으므로, 교차결합연결이 이미 형성되었고 글리콜산 성분이 더 이상 움직일 수 없다는 것을 알 수 있다.

중심부의 수용성 PEG고리에 부착된 분해성분의 중합도는 대개  $^1\text{H}$  NMR을 사용하여 측정된다. 실험적으로 측정된 중합도는 제1도에서 보는 바와 같이 계산 값과 일치하게 되었다. 따라서 PEG하이드록실에 의해 개시된 개환 반응은 산출물을 내놓으면서 진행되어 완성되었다.

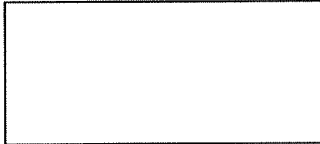
[총합수율(total water), 자유수(free water), 결합수(bound water)의 결정]여러가지 분해성 매크로머의 용액은 상기에 기술한 방법으로 제조되었다. 원형태의 겔을 틀을 사용하여 만들었다. 용액에 2분 동안 빛을 주사하여 완전히 겔화된 용액을 만들었다. 원판형 겔을 제거하여 2분 동안 진공상태에서 60°C로 건조시켰다. 그 원판의 질량(W

$W_1$ )을 측정 한 후 하루동안 클로로포름으로 반복하여 추출하였다. 다시 원판을 건조시키고 질량( $W$

$W_2$ )을 측정했다. 겔비는  $W$

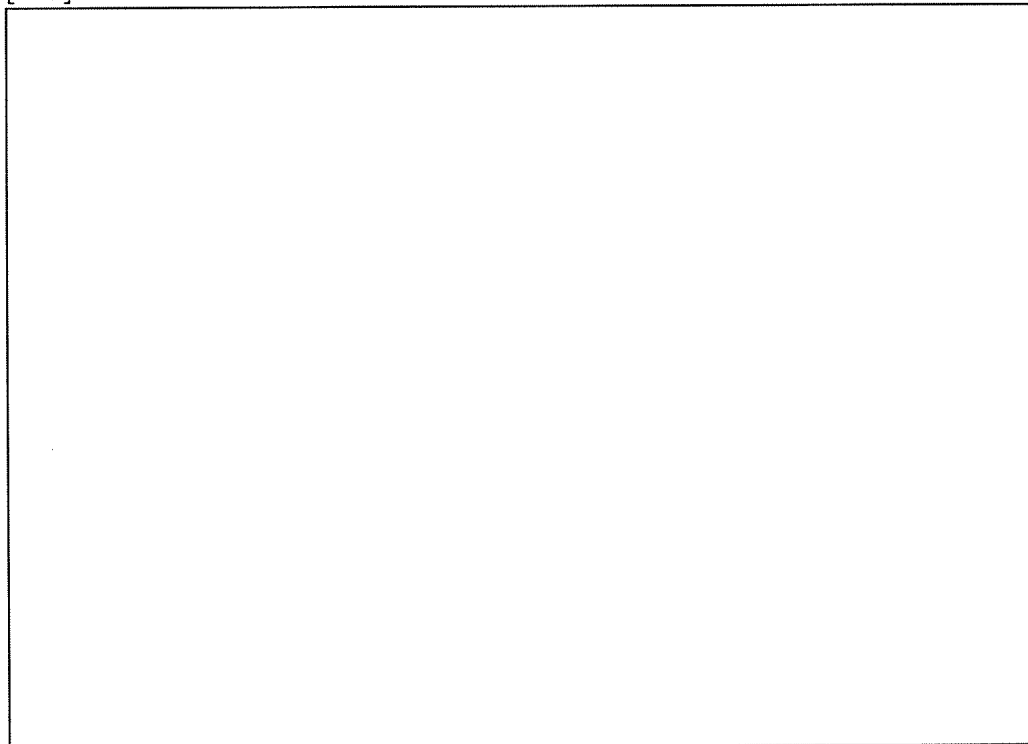
$W_2/W_1$ 로 계산되어 표 7에 나타냈다.

원판을 추출한 후에 PBS로 6시간동안 평형을 유지한 후 질량( $W_3$ :물기를 조심스럽게 제거한 후 측정함)을 측정한다. 총합수율은



으로 계산되었다. 미분주사 열량측정기(DSC)를 사용하여 겔 안에 수용될 수 있는 물의 양을 정했다. 분당 20°C속도로 주사하여 물을 녹이기 위해 흡열되는 열량을 측정했다(H1). HBS의 열량도 측정했다(H2). 자유수의 비율은 H1/H2로 계산되었다. 잉여 수는 PEG성분과의 수소결합에 의해 속박되었다. 겔 안에 자유수의 존재를 나타내었다. 이 자유수로 인해 단백질과 효소가 겔 내부에 결합되고, 또 그들의 원형을 잃지 않으며 비활성화를 줄여주게 된다. 따라서 이들 겔은 생물학적 미립자의 제어방출이 가능하도록 해준다. 겔 함수량의 자료는 표 7에 요약되어 있다.

[표 7]

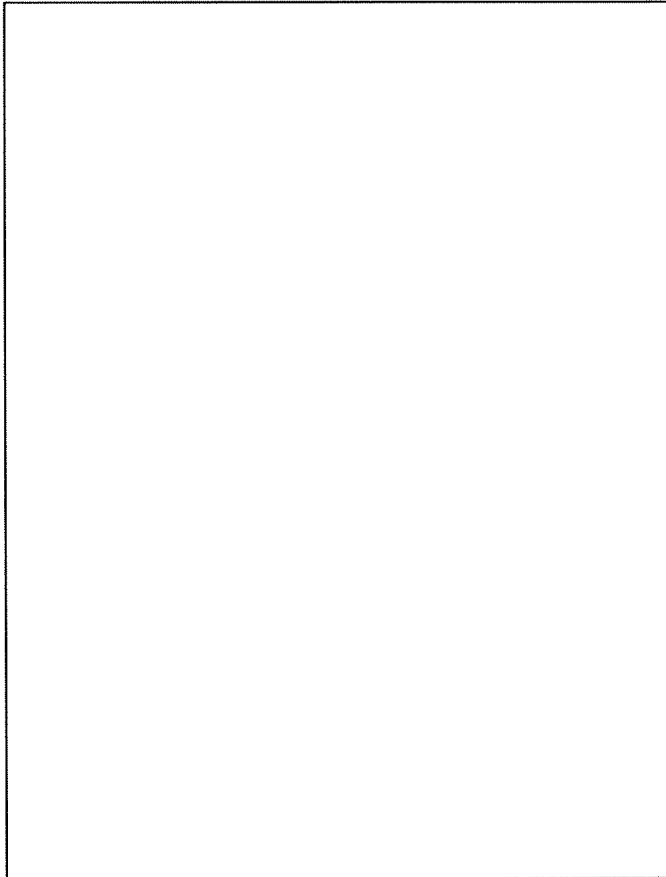


[실시에 2][다기능 매크로머의 용도]테트라기능(tetrafunctional)의 수용성 PEG(분자량 18,500: PEG18.5K) 30g 을 벤젠에 녹이고 물-벤젠 공비점에서 중류함으로써 건조시켰다. 글러브 백 안에서, PEG 18.5K 20g, 글리콜리드 1.88g와 스타너스 옥토에이트 15mg을 100ml 원형플라스크에 넣는다. 플라스크를 진공스톱커로 막고, 실리콘 오 일중탕하에서 진공상태로 유지시켰다. 중탕의 온도는 200°C에서 4시간동안 그리고 100°C에서 2시간동안 진행되었다. 반응혼합물을 냉각시켜 디클로메탄에 녹이고, 과량의 건조 에틸에테르에 쏟아 부어 공중합체를 석출시킨다. 그 다음 0°C로 냉각된 500ml 원형플라스크에서 디클로로메탄 200ml를 다시 녹인다. 이 플라스크에 삼에틸아민 0.85g과 아크릴로일클로라이드 0.514ml를 질소 대기 중에서 첨가하고, 이 반응혼합물을 0°C에서 12시간동안 휘젓는다. 여과 하여 삼에틸아민 하이드로클로라이드를 분리하고 거른 액을 디에틸에테르에서 석출시킴으로써 공중합체를 회수한다. 중합체는 하루동안 진공 상태에서 50°C를 유지하여 건조시킨다.

[실시예 3][DL-락티드를 함유하는 광감수성 매크로머의 합성]PEG(분자량 20,000 : PEG 20K)를 벤젠에 녹이고 물-벤젠 공비점에서 증류함으로써 건조시켰다. 글러브 백 안에서, PEG 20K 32.43g, DL-락티드 2.335g과 스타너스 옥토에이트 15mg을 100ml 원형플라스크에 넣는다. 플라스크를 진공스톱콕으로 막고, 실리콘 오일중탕하에서 진공상태로 유지시켰다. 중탕의 온도는 200°C에서 4시간동안 진행되었다. 반응혼합물을 냉각시켜 디클로메탄에 녹이고, 과량의 건조에틸에테르에 쏟아 부어 공중합체를 석출시킨다. 그 다음 0°C로 냉각된 500ml 원형플라스크에서 디클로로메탄 200ml로 다시 녹인다. 이 플라스크에 삼에틸아민 0.854g과 아크릴로일클로라이드 0.514ml를 질소분위기에서 첨가하고, 이 반응혼합물을 0°C에서 12시간동안 휘젓는다. 여과하여 삼에틸아민 하이드로클로라이드를 분리하고 거른 액을 디에틸에테르에서 석출시킴으로써 공중합체를 회수한다. 중합체는 하루 동안 진공상태에서 50°C를 유지하여 건조시킨다.

[실시예 4][DL-락티드와  $\epsilon$ -카프로락톤을 함유하는 광감수성 선구체(precursor)의 합성]PEG(분자량 600: PEG 0.6K)를 벤젠에 녹이고 물-벤젠 공비점에서 증류함으로써 건조시켰다. 글러브 백 안에서, PEG 0.6K 0.973g, DL-락티드 0.467g과  $\epsilon$ -카프로락톤 0.185g과 스타너스옥토에이트 15mg을 50ml 원형플라스크에 넣는다. 플라스크를 진공스톱콕으로 막고, 실리콘 오일중탕하에서 진공상태로 유지시켰다. 중탕의 온도는 200°C에서 4시간동안 그리고 160°C에서 2시간동안 진행되었다. 반응혼합물을 냉각시켜 디클로메탄에 녹이고, 과량의 건조에틸에테르에 쏟아 부어 공중합체를 석출시킨다. 그 다음 0°C로 냉각된 250ml 원형플라스크에서 디클로로메탄 50ml로 다시 녹인다. 이 플라스크에 삼에틸아민 0.854g과 아크릴로일클로라이드 0.514ml를 질소분위기에서 첨가하고, 이 반응혼합물을 0°C에서 12시간동안 휘젓는다. 여과하여 삼에틸아민 하이드로클로라이드를 분리하고 거른 액을 디에틸에테르에서 석출시킴으로써 공중합체를 회수한다. 중합체는 하루동안 진공상태에서 50°C를 유지하여 건조시키며 상온에서 이 중합체는 액체이다.

[실시예 5][광중합에서 사용되는 염료의 선택]많은 종류의 염료를 개시제로 사용하고 많은 전자 도너(donors)를 효과적인 코카탈리스트(cocatalyst)로 사용하여 광중합을 개시하는 것이 가능하다. 표 8은 여러가지 다른 파장을 흡수하는 발색단을 가진 염료들을 개시제로 사용한 광중합을 설명하고 있다. 모든 겔화반응은 HEPES 완충소금에서 18.5KG의 23% W/W 용액을 사용하여 진행되었다. 표 8에 나타난 바와 같이 이 기폭제는 잘 알려진 열기폭제와 비교된다. 특히 잘 쓰이는 광기폭제는 2-메톡시-2-페닐아세토페논과 캄포르퀴논이다.



코드S1 수은등, 라이프 웨슬러 타입 3-7-148.002, 100W

S2 블랙레이 장파자외선등, 모델 B-100A W/F100DS3 멜레스 그리웃 헬륨-네온 레이저, 출력 100mW, 파장 =632nmS4 아메리칸 레이저 코포레이션, 아르곤 이온 레이저, 모델 909BP-15-01001; 파장 488nm, 514nm여러 도료가 광중합에 쓰여진다. 이들 도료에는 아래와 같은 것이 있다.:

에리트로신, 폴록신 로즈벵갈, 티오네인, 캄포르퀴논, 에틸에오신, 에오신, 메틸렌블루와 리보플라빈. 코카탈리스트에는 아래와 같은 것이 있다: N-메틸 디에탄올아민, N,N-디에틸벤질아민, 삼에탄올아민, 삼에틸아민, 디벤질아민, 디벤질아민, N-벤질에탄올아민, N-이소프로필 벤질아민과 N-비닐 피롤리돈.

[실시에 6][열에 민감하고 미생물에 분해되며 N-아이소프로필 아크릴아드로 된 겔][저분자량의 폴리아이소프로필 아크릴 아마이드 합성]N-아이소프로필 아크릴아마이드(NIPAAm)는 65대 35 비율의 핵산과 벤젠혼합물로부터 재결정되었다. 아조비스이소부티로니트릴(AIBN)은 메탄올로부터 재결정되었다. 1대1 비율인 아세톤과 물의 혼합물 내에서 3mg의 AIBN과 150mg의 메르캅토 에탄올을 65°C로 24시간동안 반응 시키므로써 1.5g의 NIPAAm이 중합되었다.

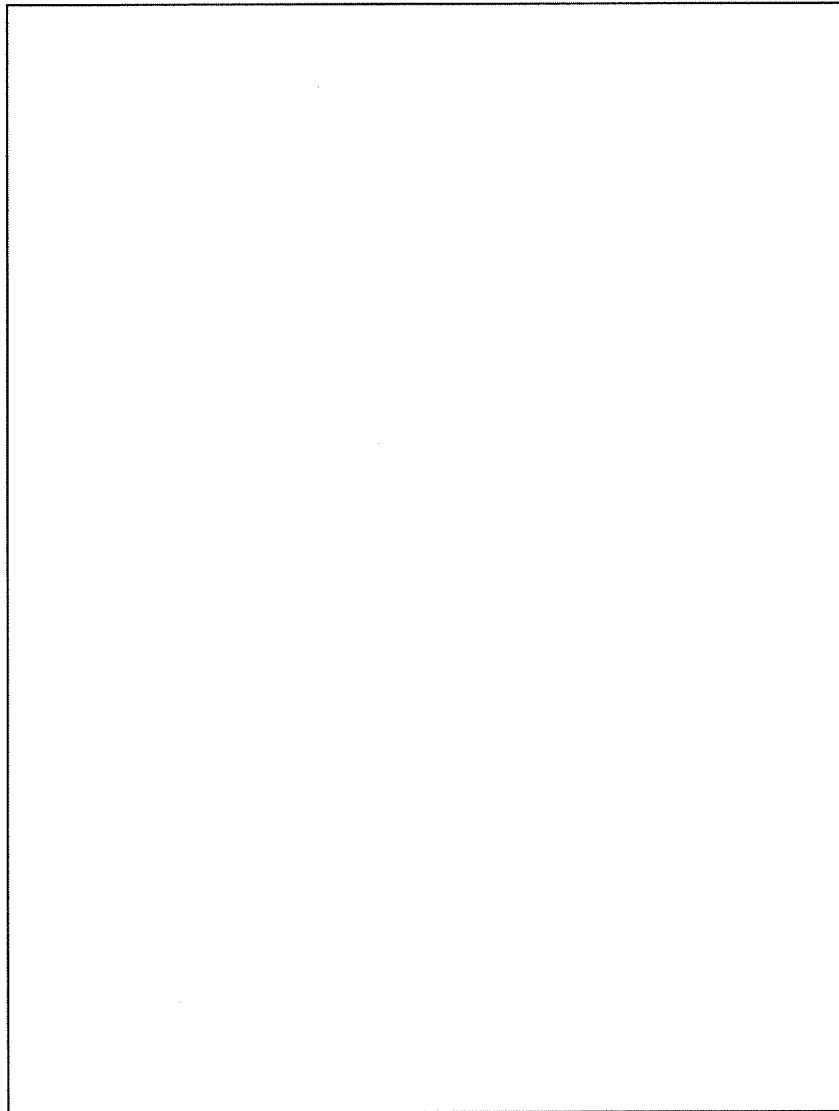
중합후의 점액(viscous Liquid)을 아세톤에 용해시켜 디에틸에테르에서 침전시키므로써 정제하였다. 수율(收率: yield)은 80%이다. 수산기(hydroxy)로 된 저분자량의 중합체(poly)는 다른 실시예에서 기술한 바와 같이 글리콜리드를 이용한 사슬확장 반응: Chain extension reactions)과 아크릴로일 클로라이드를 이용한 후속말단반응(subsequent endcapping reaction)에 사용되었다. 올리고머에 근거하여 변화된  $\alpha$  중합체(NIPAAm) 1g과 1KL 0.2g을 0°C 물에 용해시킨 다음 2-2-디메톡시-2-페니락토 페논(900PPM)을 사용하여 0°C에서 중합시켰다.

[실시에 7][시험관내의 분해반응]비중합(unpolymerized)된 거대분자잔류물을 제거하기 위해 실시예 1에서 기술한 방법으로 겔을 추출하였고, 상기 겔을 37°C에서 pH 7.4인 염분(0.9%NaCl)으로 된 50mM HEPES속에 넣었다.

부반응의 시료를 주기적으로 제거한 후, 순수한 HBS로 세척하고 100°C에서 1일 동안 건조시켜 질량을 측정하므로써 겔의 질량손실을 결정한다. 다양한 겔의 성분은 선행 실시예들에서 기술된 것과 동일하다.

표 9는 경과시간에 따른 질량손실률(%)로, 이들 겔의 분해반응정도를 나타낸 것이다. 각각의 질량손실에 따른 시간들은 괄호 내에 기재된 것과 같다.

[표 9]



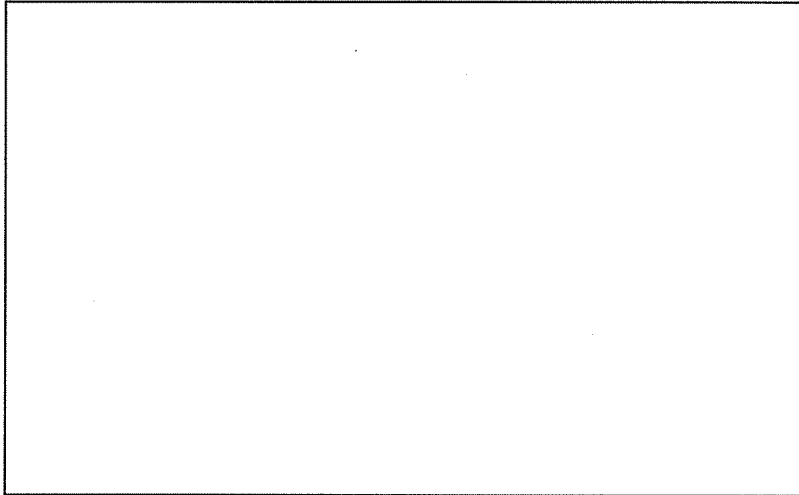
[실시에 8][섬유조직세포(Fibroblast)의 유착과 확장]광중합 겔로 된 인체포피조직세포(HFF)의 시험관 내 반응은 중합체그물구조(polymernetworks)상의 세포배양을 통해 산출되었다. 무균상태의 18 × 18mm의 유리커버슬립(glass coverslips)위에서 0.2ml의 단량체용액을 자외선(UV)중합시켰다. HFF세포는, 10% 태아 송아지 유액으로 보충된 돌베코의 변형된 독수리의 매개체(Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM))내에서 커버슬립면적의  $1.8 \times 10$

$4\text{cell/cm}^2$ 를 차지하는 세포밀도로써 겔상에 배양된다.

37°C의 온도로 5%  $\text{CO}_2$ 내에서 6시간동안 겔을 잠복시킨 후, 인산이 완충된 식염(phosphate buffered saline (PBS))으로 두차례 세척한다.

달라붙은 세포는 2% 글루타르 알데히드의 PBS용액을 사용하여 고정시킨다. 배율을 200배로 맞춘 상 대조(Phase contrast) 현미경으로 겔을 점검하였으며, 미리 결정된 위치에서 5가지 분야를 선택하여 검사하므로서 점착되어 퍼져 있는 세포의 수를 산출하였다. 달라붙은 세포의 수를 유리조절표면에 대한 데이터와 함께 표 10에 나타내었다. 세포점착은 겔이 코팅된 유리에서 결정적으로 보다 낮게 나타남을 알 수 있다.

[표 10]



18.5KCL겔 표면과 조절유리표면 위에 있는 세포의 사진을 제2(a)도와 제2(b)도에 도시하였다. 이들 겔은 세포질의 성장을 억제한다는 사실을 표 10으로부터 쉽게 파악할 수 있다. 심지어 18.5KCL은 유리의 10%보다도 적게 된다. 유리표면에 달라붙은 세포가 평평하게 잘 퍼진 형태를 보이는 반면, 겔에 집착된 몇몇의 세포는 둥글고 느슨하게 붙어있게 된다. 이는 수화(hydrated)된 PEG사슬이 높은 운동력을 가지며 단백질 흡착을 최소화하는데 효과적이라는 사실로부터 나온 결과일 수 있다. 세포 집착을 조정하는 메커니즘 중의 하나는 흡착된 세포집착 단백질이 있는 세포표면 수용체의 상호작용이다. 그래서 모든 단백질 흡착에서의 환원반응은 최소의 세포단백질 흡착이라는 결과가 되며 세포접착으로 환원된다.

[실시에 9][중합체로부터의 단백질방출]1KG가 본 연구에서 사용되었다. 이 거대분자는 실온에서 액체이며, 그러한 상태로 사용되었다. 1mg의 보빈세럼알부민(bovine serum albumin(BSA))은 개시제인 2,2-디메톡시-2-페닐-아세토페논 0.9mg/ml이 있는 단분자용액의 ml단위로 넣어진다. 단백질은 단분자용액내에서 용해되며, 원반모양의 겔은 거대분자 혼합물 0.2g을 LWUV에 1분 동안 노출되게 하여 만든다.

이 원반 2개를 20ml PBS가 있는 플라스크 내에 놓고 37°C에서 배양시켰다. 두 정제수인 20μl씩을 이들 플라스크에서 주기적으로 취하고, 방출된 BSA양을 바이오-래드 종합단백질(Bio-Rad Total Protein) 분석법을 이용하여 분석하였다. BSA에 대한 방출단면도가 제3(a)도에 나타내었다. BSA의 방출은 비교적 한달 이상의 기간이 안정적임을 알 수 있다.

[실시에 10][효소방출분석]거대분자방법 겔화반응의 수용성은 무독성 상태에서 수행되었다. 이는 내부작용에 적합한 물질을 만드는데, 여기서 본래의 겔화반응이 요구된다. 선구체가 물에 용해되기 때문에, 겔은 수용성약품 특히 효소와 같은 거대분자약품에 대한 약품전달매개물로서 사용될 수 있는데, 그렇지 않으면 이들은 변성되거나 활성도를 잃을 것이다. 중합체로부터 리소좀과 tPA의 방출은 생분자 방출조절에 대하여 미생물로 분해되는 수화겔의 가능성을 설명하는데 이용된다.

[리소자임 방출]효소 리소자임(MW; 14,400)은 미생물로 분해되는 겔로부터 저분자량 단백질의 방출에 관한 편리한 모델이다. 바이오-래드 종합단백질 분석은 방출된 효소를 농도 20mg/ml PBS에 용해시켰다. 단량체 PEG-dl-락틱 엑시드/디아크릴레이트를 PBS에 녹여서 40%용액을 만들었다. 리소자임용액을 단량체 용액에 넣어서 24%단량체 용액이 되게 하였다. 단량체/리소자임 용액을 원통모양의 주형 내에서 LV에 노출시켜 중합하였는데, 1-비닐-2-피롤리돈 (30mg/ml)속에 2,2-디메톡시-2-페닐-아세토페논 30μl을 녹여서 개시제로 사용하였다.

중합체는 10등분되어 10ml PBS에 넣었다. PBS의 시료들은 정기적으로 꺼내어 PBS내에 방출된 리소자임을 분석하였다. 리소자임은 PEG-DL-락틱 엑시드-디아크릴레이트 겔로부터 8일동안 방출되었는데, 제3(b)도에 나타난 바와 같이 처음 2일 동안 방출최대속도를 나타내었다.

[재결합체 t-PA의 방출]본 연구에서는 3개의 거대분자 1KL, 4KL, 17.5KG가 사용되었다. 1KL 거대분자는 실온에서 액체이며, 이 상태로 사용되었다. 두번째 거대분자 4KG는 PBS내에서 75%W/W용액으로 사용되었다. 세 번째 성분은 1KL의 등분혼합물과 18.5KG의 50%W/W용액이다. 3.37mg의 조직 플라스미노겐(plasminogen){활성물 단일사슬(single chain)인 재결합체, 분자량: 71,000}은 개시제인 2,2-디메톡시-2-페닐아세토페논 0.9mg/ml와 함께 거대분자 용액의 그램 단위당으로 넣었다.

단백질을 거대분자에 용해시킨 후, 거대분자 혼합물 0.2g을 1분 동안 LWUV에 조사하여서 원반모양의 겔로 만들었다. 이 두개의 원반을 PBS로 세척하고 PBS 5ml가 있는 플라스크 속에 넣고, 37°C에서 배양시킨다. 두 정제수 100 $\mu$ l을 이들 플라스크에서 주기적으로 취하여, 색원체의 기질분석법(Kabi-vitrum)을 써서 방출된 t-PA의 양을 분석하였다. 1K 렉티드 겔과 4K 글리콜리드 겔 및 50/50 1K 글리콜리드/18.5K 글리콜리드의 방출단면도를 그림 4a-4c에 나타내었다.

매우 활성적인 t-PA는 적어도 두달이상의 기간동안 방출될 수 있다. 적당한 공식을 택하여 방출속도를 구할 수 있다. 공동작용으로 방출의 고유특징과 구조적 특성을 이루기 위하여 다른 분자량을 가진 공식을 조합하는 것도 가능하다.

반응후의 부착을 방지하기 위해, 겔의 자벽효과(barrier effect)에 부가하여 겔에 피브리놀 리틱시약물을 적재하여 초기의 박막유착을 용해시킬 수 있다. 이로써 유착을 방지하기 위한 생분해성 겔의 효율을 향상시킨다.

[실시에 11][폴리머(Polymer)와 시판용 접착물의 독성]시판용 유착제에 비교하여, 여기에 설명된 매크로머 용액(macromer solutions)의 원래위치(in situ)의 중합의 독성을 측정하기 위하여, 100 $\mu$ l의 18.5KCO 프리폴리머용액이 쥐의 간의 우측 로브(lobe)에 놓여지며 15초 동안 LWUV에 노출시킴으로써 겔화된다. 유사하게, 몇 방울의 n-부틸시아노 아크릴레이트염 접착제가 좌측로브에 떨어뜨려진다. 상기 간은 일주일 후에 제거되었으며, 10% 중성완충포말린에 응고되고, 파라핀에 블록 되고, 헤마톡시린과 에오신을 사용하여 분할되고 채색되어졌다 미생물로 분해되는 겔에 노출된 로브의 표면상에 분명한 역조적 반응은 없었다. 중합과정에 대한 염증반응은 볼 수 없다.

상피세포는 거부반응없이 정상으로 보인다. 비교해 볼때, 시아노아크릴레이트 접착제에 노출된 로브는 광범한 조직괴사와 10~30개의 세포네크로틱 조직을 갖는 흉터를 보여준다. 밑에 있는 정상조직에 인접한 네크로틱 부분들에 섬유층이 분명하다.

[실시에 12][광중합되고 생분해되는 폴리머와의 수술후 유착의 방지]양단에 짧은 폴리글리콜리 반복단위(평균 각 말단에 10개)로 연쇄 연결되어져 있으며 아크릴레이트군으로 연속적으로 종결되어진 폴리에틸렌글리콜(M.W.18,500)의 인산염 완충 염수상태의 23% 중성 접액이(8.0 g/l 염화나트륨, 0.201 g/l 염화칼륨, 0.611 g/l Na

$_2\text{HPO}_4$  0.191 g/l KH

$_2\text{P}_4$ , pH7.4) 준비되어졌다. 교차결합반응에 필요한 기폭제인 2,2-디메톡시-2-페닐아세토페논이, 900ppm의 기폭제 농도를 얻기 위하여 매크로머 용액에 첨가되었다. 중합을 야기시키기 위해서는 장파 UV램프(블랙 선)에 30초간 노출시키면 충분하다.

[측정된 동물 모델들]측정된 동물모델들로는 쥐의 맹장 모델과 토끼의 자궁각 모델이 포함되었다. 쥐 맹장 모델에서, 매크로머 용액으로 치료된 7마리 동물 중 6마리는 전혀 유착이 없었던 반면, 치료되지 않은 동물들은 일관되게 농후한 유착형성을 나타냈다. 토끼자궁 각 모델에서는, 유착형성에서의 현저한 감소( $p < 0.01$ )가 겔로 치료된 동물들에서 관찰되었다. 겔화되지 않은 예비접액(LWUV)을 조사하지 않는 경우만을 사용하여 쥐들에 대하여 행해진 연구에서 유착형성을 방지할 수 없었다.

[쥐의 맹장모델]250mg의 평균무게를 갖는 21마리의 스프라게 돌레이(Sprague Dawley) 수컷 쥐들은 치료받는 3개의 군과(실험결과와) 조절을 위한 2개의 군으로 나누어졌다. 복부는 절개되었으며 베타딘 용액과 함께 준비되었다. 중선절개가 에퀴테신 마취상태에서 이루어졌다. 맹장이 놓여진 다음 채강 상처와 반점있는 출혈을 발생시키기 위해 4 x 4cm

$^2$ 크기의 가제패드를 사용하여 맹장의 한쪽 약 2 x 1cm<sup>2</sup> 가량의 부분이 4-5번 급혀졌다. 상기 동물들의 절개된 복부는 근육 층에 대한 연속적인 4-0 실크 봉합을 사용하고 피부 층에 1.5mm 스텐레스강 절쇠를 사용하여 봉합되어졌다. 국소항생물질이 절개부에 투약되어졌다.

제1군은 치료받지 않는 대조군으로, 모델의 타당성을 확인하기 위하여, 7마리의 동물들로 구성되었다. 제2군은 전구체가 투여된 후, 광중합되지 않아 하이드로겔을 형성하지 않는 대조군이다.

맹장에 상처를 유발시킨 후 상처부위에 약 0.25ml의 전구체 용액을 피펫를 사용하여 투여했다. 그런 다음 절개된 복부는 상기한 바와 같이 봉합되어졌다.

제3군은 겔로 치료된 군으로 전구체 막을 겔화시키기 위하여 LWUV램프에 45초동안 노출된 것을 제외하고는 제2군과 같은 과정으로 준비되었다. 맹장의 바깥쪽과 안쪽모두 전구체와 빛으로 유사하게 처리되어졌다. 조직표면을 건조시키

거나, 피를 제거하거나, 치료될 부분을 세정하지는 않았다.

상기 동물들은 2주일이 된 날 CO<sub>2</sub>에 의해 질식되어졌다. 봉합되어진 절개부분이 다시 절개되어졌으며 유착의 위치, 범위, 끈적도가 기록되어졌다. 유착의 범위는 부속기관이나 복막벽과 유착하게 되는 맹장의 외상을 입는 부분의 비율로서 기록되어졌다. 유착의 끈적도는 0에서 4까지의 등급으로 기록되어졌다.; 유착없음-0등급; 자체로 종종 분리되는 임시의 약한 유착-1등급; 약간의 저항성을 나타내나 손으로 분리될 수 있는 유착 -2등급; 분리시키기 위하여 무딘 기구 절개가 필요한 유착-3등급; 분리시키기 위해서는 유착면에서의 날카로운 기구 절개를 필요로 하는 두껍게 밀집된 유착-4등급.

[취맹장 모델 결과]치료를 받지 않은 대조군은 일관되게 밀집되고 광범위한 유착을 나타낸다. 유착으로 뒤덮인 상처의 범위는  $73 \pm 21\%$  (평균  $\pm$  S.D.,  $n=7$ )로 관찰되었다. 유착의 정도는  $3.5 \pm 0.4$  등급이었다. 대부분의 유착들은, 맹장 그 자체와 관련되어 그리고 복막벽과 간, 소장, 대장과 같은 다른 기관들과 밀집되고 섬유성이다. 종종 네센터리(nesentery)가 유착과 관련되어 관찰되었다. 전구체 액이 투여되었으나 LWUV램프에는 노출되지 않음으로써 겔화되지 않은 대조군에서, 유착의 범위는  $60 \pm 24\%$  ( $n=7$ )이고, 유착의 정도는  $3.1 \pm 0.4$ 이었다. 겔 치료된 군에서, 맹장은 7마리의 동물 중 6마리에서 유착현상이 완전히 없는 것으로 관찰되었다. 한 실시예에서 2등급 유착이 상기 면적의 10%에 걸쳐 장간막에서, 그리고 2.5등급 유착은 상기 면적의 15%에 걸쳐 관찰되었으며, 복막벽에서의 절개부에서 맹장의 봉합이 이루어졌다. 상기 군에 대한 전체 유착 범위는 4%로, 전체의 유착도는 0.32였다. 잉여 겔의 증거는 보이지 않았으며, 상기 겔은 아마도 종전의 수일 내에 저하되었다. 맹장은 콘트롤군에서 표면상에 섬유층이 있고 실제로 희끄무레하게 나타났으나, 조직은 겔로 처리된 동물에서 건강하고 정상적으로 나타났다.

[토끼 자궁각 모델]2 내지 3kg의 무게를 갖는 성적으로 성숙한 8마리의 암컷 뉴질랜드 토끼들이 수술을 위해 준비되었다. 중앙선 절개가 림펜, 케타민, 아세프로마진 마취상태에 하복구에서 이루어졌다. 자궁 각들은 놓여졌고 양 각들에 대한 맥관구조는(혈관수축에 의한)국소빈혈적 상처를 유발시키기 위하여 조직적으로 소작(cauterized)되어졌다. 1마리의 동물은 불완전한 자궁 각들 때문에 연구대상에서 제외되었다.

7마리의 토끼들이 광중합 가능한 하이드로겔만으로 치료받도록 선택되었으며, 2마리의 동물들은 하이드로겔의 피브리놀리틱제, 조직플라즈미노겐 활성화제(tPA)와의 결합된 효력을 측정하기 위해 선택되어졌다. 5mg의 tPA/ml 매크로머용액이 후자의 경우에 사용되었다. 소작 후, 매크로머 용액(0.5ml)이 각을 따라 투여되었으며 소작 상처가 유발되어진 표면을 덮도록 되어졌다. 상기 용액이 투여되어진 후, 각들은 겔화를 유발시키기 위하여 1분 동안 LWUV램프에 노출되어졌다. 상기 절차는 각들의 안쪽 면에서도 반복되어졌다. 그런 다음, 상기 절개된 부분들은 복막 층에 대한 연속적인 2-0 비크릴(에티콘)봉합과 피부 층에 대한 0 비크릴(에티콘) 봉합을 사용하여 봉합되어졌다. 아무런 예방 항생제가 투여되지 않았다. 수술후의 합병증이나 감염은 관찰되지 않았다. 5마리의 동물들이 대조군에서 사용되어졌다. (혈관수축에 의한)국소빈혈적상처는 설명된 바와 같이 이루어졌으며 절개된 부분은 전구체액의 투여없이 봉합되어졌다.; 모든 기술들은 치료군과 대조군 사이에서 동일했다.

대조군들과 같은 동물모델이 매크로머의 투여없이 수술을 받았다.; 모든 수술상의 기술들은 치료군과 대조군들 사이에서 동일했다.

상기 토끼들은 유착형성을 측정하기 위하여 2주일이 끝나갈 무렵 케타민 마취상태에서 재수술되어졌다.; 상기 토끼들은 내강심제인 KCl2주입에 의해 희생되어졌다. 유착형성은 범위와 끈적도에 대하여 측정되어졌다. 유착형성의 범위는 그 자체로 또는 복막벽과 또는 다른 기관들과 유착된 자궁각의 길이를 측정함으로써 측정되어졌다. 유착의 끈적도는 박막형태이거나 섬유상태로서 분류되어졌다. 박막형태의 유착은 대개 투명하고, 덜 강인하였으며, 손으로 제거될 수 있었다. 섬유상태의 유착은 밀집되어 있고, 흰색을 띠었으며, 제거시키는데 날카로운 도구가 필요했다. 단하나의 박막형태의 유착밴드만이 분명했던 경우에, 5%의 등급이 매겨졌다.

각의 표준견본들은 해부연구를 위해 절제되어 10% 중성 완충 포르말린 용액 속에 응고되어졌다. 견본들의 파라핀 부분들은 헤마톡시린과 에오신을 사용하여 착색되어졌다.

[토끼 자궁각 모델 결과]유착등급은 유착점유면적의 퍼센트이며, 각각을 박막형태나 섬유형태로서 등급을 매긴다. 비틀린 각조직이 대조 동물들에서 관찰되어졌다. 대조군에서의 평균등급 10%는 박막형태이고 90%는 섬유형태를 가지는 유착에 의해 점유되어지는 각의 감염면적의  $50 \pm 15\%$ 이었다. 콘트롤로서 사용된 동물에서의 자궁각의 상면도인 제 5(a)도로 부터 알 수 있듯이, 비틀린 각조직이 관찰되었으며, 각 표면의 66%에 걸쳐 유착이 형성되었다. 광중합된 매크로머만으로 치료된 동물군은  $13 \pm 11.4\%$  ( $n=10$ )의 유착등급을 나타냈다. 상기 동물군중, 4마리의 동물들에서 임시의 박막 밴드가 보이며, 5%미만의 유착을 나타냈다.

tPA를 포함하는 광중합된 겔로 치료된 동물들은 "겔만"으로 치료된 동물들에 비해 더욱 개선된 결과치들을 나타냈다.

일군의 동물들은 오른쪽과 왼쪽각 모두에 박막 밴드를 나타냈다. 상기 일군의 동물들은 5%의 등급을 갖고 전체등급이 10%이었다. 다른 동물은 유착을 전혀 나타내지 않았다. 따라서 상기 동물들에 대한 전체 등급은  $5 \pm 5\%$ 였다.

제5(b)도는 겔로 치료받는 표준 각에서의 정상 각조직을 도시한다. 모든 경우에 있어서 유착은 박막이고 밀집된 밴드들은 보이지 않았다. 잉여 겔의 흔적을 관찰할 수 없었다. 박막형상의 유착을 나타내는 각들의 표준 견본들은 6-15개의 섬유아세포들의 두꺼운 세포층을 가지는 교원질 섬유를 나타내나 밀집된 교원질 섬유의 형성은 나타내지 않는 약간의 교원질 섬유조직을 나타냈다. 유착이 없는 각들은 때때로 1-4개의 섬유 아세포들의 두꺼운 세포층을 나타냈으나, 대부분은 염증성 세포들의 징후가 없는 정상적인 장피를 나타냈다.

상기의 절차는 쥐자궁혼 모델을 사용하여 수술후의 유착을 방지하기 위하여 폴리머를 사용하는 더욱 좋은 양태로서 아래에 기술된 바와 같이 약간 수정되어졌다.

암컷 쥐들은 펜토바르비탈(pentobarbital)로 (50ml/kg, 복막 안으로)마취되었으며, 그런 다음 중앙선 개복수술이 이루어졌다. 자궁 각들은 노출되었으며, 각들에 영양을 공급하는 맥관구조는 2극 소작벽을 사용하여 조직적으로 소작되어졌다; 각각의 각에서의 기부 및 말초대맥관은 소작되지 않았다. 그 다음으로, 각각의 각의 반장 간막 표면은 각 각상의 2개의 1mm직경의 지점에서 소작되었으며, 각각의 지점으로 2cm거리만큼 이격되었고, 상기 한 쌍의 지점은 각각의 길이방향을 따라 위치해 있다. 상처를 낸뒤, 0.5ml 매크로머용액이 각각 투액되어졌으며 앞쪽과 뒤쪽 각각에서의 표면당 15초동안 장파장 자외선(365nm, 거의 20mw/cm

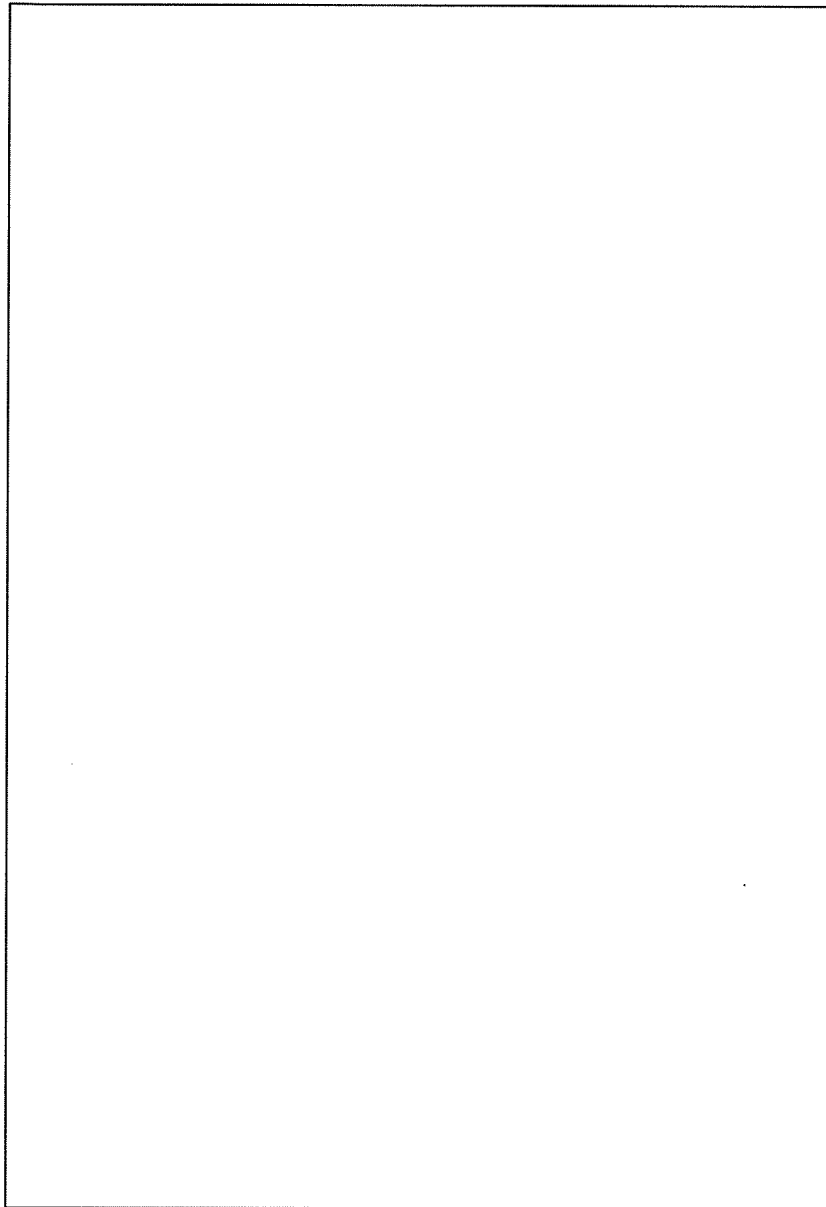
<sup>2</sup>)에 노출시킴으로써 겔화되었다. 자궁은 복막공동에서 대체되었으며, 복막층과 피부층은 봉합되어졌다. 상기 매크로머는 분자량 8,000 달톤들의 PEG연쇄로 구성되었으며, 5개의 락티달군들의 중합의 평균등급의 유산 올리고머와 함께 양쪽에 뻗어있으며, 또한 아크릴로일 염화물과 반응하면서 명목상 양단에서 아크릴레이트화되었다. 한 배치에서, (배치 A), 아크릴 화의 정도는 NMR에 의해 거의 75%로 결정되었으며, 다른 배치에서, (배치 B), 아크릴화의 정도는 거의 95%보다 더 크게 결정되었다. 매크로머는 특정농도의 염수에서 분해되었으며, 사용된 초기시스템은 N-비닐피로리디논 상태의 군체용액으로부터의 2,2-디메톡시-2-페닐아세토펜이였으며, 2,2-디메톡시-2-페닐아세토펜이 마지막 농도는 900ppm이었고 N-비닐피로리디논의 마지막 농도는 0.15%이었다.

한 실시예에서, 배치A로부터의 매크로머는 농도가 변하는 상태로 투액되어졌으며, 유착은 수술 후 7일 동안 기록되었다. 기록은 2가지 방법에 의해 이루어졌다. 유착과 연관된 각들의 길이는 자로 측정되어졌으며, 전체길이가 계산되어졌다. 또한 유착의 성질은 주관적인 척도로 측정 기록되어졌으며, 0은 유착이 없음을 나타내고, 1은 손으로 쉽게 분리되는 박막형상의 유착을 나타내며, 2는 날카로운 도구로 절개함으로써 분리될 수 있는 밀집된 유착을 나타낸다.

게다가, 견본들 중 하나에는 0.5mg/ml(0.5%) 매크로머용액의 농도에서, 유착을 감소시키는 것으로 알려진, 조직-플라즈미노겐 활성화제(t-PA)가 포함되었다. 상기 결과수치들은 매크로머 배치A와 배치B에 대하여 표 11에 표시되었다.

실시예 3에서, 유착은 상기한 바와 같이 암컷 쥐들에 형성되어졌으며, 상기 유착은 초기 수술 후 7일 동안 외과적으로 용해되었다. 유착의 범위와 등급은 소산동안 기록되어졌다. 상기 동물들은 2군들로 나뉘어졌으며, 1군은 10%의 농도에서 배치 B로부터의 매크로머로 처리되었다. 그 결과수치들은 배치B, 10%로서 표 11에 표시되었다.

[표 11]



상기 결과수치들은 상기 광증합된 매크로머가 제1기의 유착과 유착분해모델을 모두 수술 후 유착을 감소시키거나 방지시킬 수 있는 것을 예시하며, 게다가 겔이 결합된 유익한 효과를 발휘하는 약물을 국소적으로 발매시키는데 사용될 수 있다.

[실시예 13][신경합류(Nerve anastomosis)]쥐의 좌골신경은(외과해부용) 메스를 사용하여 무균처리상태로 절단되었으며 분해되었다. 신경의 양단은 살균핀셋을 사용하여 재대비되었으며, 폴리마(중합체)1KL의 완충상태의 50% 용액과 락티드 연쇄확장과 아크릴레이트 중결이 갖추어졌으며, 0.1% 2,2-디메톡시-2-페녹시 아세토페논이 갖추어진 PEG 1K로부터 만들어진 매크로머는 신경기부에 투액되어졌다. 상기 감염된 면적은 60초동안 100W LWUV 램프에 쏘여지고, 유착결합은 기부 및 말초신경 사이에 형성되어진 것이 관찰되었다.

신경조직에 투액된 물질의 생물학적 호환성을 확실하게 하기 위하여, 매크로머의 같은 용액이 절단되지 않은 쥐의 좌골신경에 투액되어졌으며, 절개된 면은 표준 작은 동물의 외과수술기술을 사용하여 봉합되어졌다. 상기 봉합된 면은 수술 후 1시간 또는 24시간만에 재절개되었으며, 신경의 감염된 면은 일괄적으로 제거되어 투과형전자현미경 검사를 위해 준비되어졌다. 비록 실험된 신경들이 외상을 입고 손으로 처리되어졌다 할지라도, 손으로 처리되지 않은 대조 쥐의 좌골신경에 비교해 볼 때 임의의 시간점에서 처리된 신경들 사이에 형태학상의 차이점은 관찰되지 않았다.

[실시예 14][조직점착물로서의 PEG염기 퇴화할 수 있는 겔들의 측정]암컷의 뉴질랜드 하얀 토끼들로부터 복부 근육 조직판이 절제되어 1cm X 5cm 크기의 작은 조각으로 절단되었다. 상기 조직 판들은 거의 0.5~0.8cm의 두께였다.

1cm X 1cm크기의 겹쳐잇기가 2개의 상기 조직판들을 사용하여 만들어졌다. 0.6KL인 2개의 서로 다른 합성물들이 상기 조직상에서 측정되어졌다. 상기 2개의 합성물들은 점액들이고 더이상의 희석없이 사용되었다. 50 $\mu$ l의 트라이에타노라민과 함께 N-비닐 피롤리돈(20mg/ml)상태의 125 $\mu$ l의 애틸에오신용액은 각ml의 점착용액에 첨가되어졌다. 100 $\mu$ l점착용액은 각각의 겹친 조직판들에 투액되어졌다. 그 다음으로 겹쳐잇기가 각면으로부터 2W의 아르곤이온레이저(argon ion laser)를 주사함으로써 조사되었다. 그 결과의 겹쳐잇기들의 강도는 겹쳐잇기를 잘라내는데 필요한 힘을 측정함으로써 측정되어졌다.

겹침 연결부의 한쪽 선단을 클램프로 고정하고 다른 쪽 선단에는, 파단이 일어날 때까지 연결부를 수평으로 잡아주면서 하중이 점차적으로 증가하도록 하중을 걸었다. 4개의 연결부를 각 구성마다 시험하였다. 1KL 연결부는 6.6 $\pm$ 1.0Kpa (평균치 $\pm$ S.D.)의 강도를 가졌고, 0.6KL연결부는 11.4 $\pm$ 2.9kpa의 강도를 가졌다. 조직두께가 6-8mm이지만 광중합화를 얻을 수 있었고 상당한 결합력을 얻을 수 있음을 알았다. 514nm 빛을 사용하여 분광기는 상기 근육조직을 통하여 1%이하의 전송을 보였다.

[실시에 15][광중합기와 단백질(알부민)의 결합]PEG(M.W. 2,000)모노아크릴레이트(5g)을 디클로로메탄 20ml속에 용해시켰다. 트리메탈아민(0.523g)과 2,2,2-트리플로로에탄술폰닐클로라이드(트리실클로라이드)(0.017g)를 첨가시켰고, 질소 대기중의 0°C에서 3시간동안 반응이 일어나도록 했다. 그리고나서 반응혼합물을 여과시켰고, 디클로로메탄을 증발시켜 건조시켰다. 그리고 잔류물은 디클로로메탄의 미량속에 용해시켜 디에틸속에 석출시켰다. 그리고 나서 폴리머를 여과시켰고 진공 속에서 10시간동안 건조시켰고 알부민과 반응하는 데 직접 사용했다. 모비세툼알부민 1g을 pH 9인 소듐비카보네이트 완충액 200ml속에 용해시켰다. 트리실활성화 PEG모노아크릴레이트(5g)을 첨가하여 25°C에서 24시간동안 반응하도록 교반시켰다. 반응혼합물을 아세톤속에 투입하여 알부민을 분리시켰다. 15,000 달톤 절단 다이알리시스 알부민을 사용하여 다이알리시스로 완전히 정제했다.

PEG 아크릴레이트알부민 용액 10%w/v는 2,2-디메톡시-2-페닐라세토페논 0.9mg/ml를 개시제로 사용하여 장파장 자외선에서 광중합화될 수 있다. 이 겹에서 낫출 수 있는 부분은 프로테인 알부민이다.

[실시에 16][폴리사카라이드(히알루론산)의 변형]건조된 둥근 플라스크안에서, 10g의 PEG 400 모노메탈크릴레이트가 건조디옥사인 100ml에 용해되며, 여기에 4.053g 카르보닐 디이미디아졸레가 질소대기상태에서 천천히 넣어지고, 플라스크가 6시간동안 50°C까지 가열된다. 그후에 용매는 진공하에서 증발되며 PEG모너머(monomer)에 의해 활성화된 CDI는 디클로로메탄 안에서 용해되고 2배 에테르에 석출됨에 의해 세정된다. 1g의 히알루론산, PEG400 모노 아크릴레이트에 의해 활성화된 5g의 CDI는 200ml 소듐보레이트완충액(pH8.5) 안에서 용해되고 그 용액은 24 시간동안 취저어진다.

이것은 활성화되지 않은 PEG를 제거하기 위해 15000달톤이상을 투과시키지 않은 투석막을 사용하여 투석된다. 아크릴수지 히알루론산의 10% w/v용액은 디메톡시-2-페닐아세토페논 0.9mg/ml를 개시제로서 사용하여 장파장 자외선의 방사로 광중합된다.

[실시에 17][폴리오소카보네이트와 확장되고 우레탄메타크릴레이트로 캡 씌워진 PEG체인]3,9-비스(메틸렌) 2,4,8,10-테트라옥사스피로[5,5]운데칸(1g)과 폴리에틸렌글리콜(분자량 1000, 7.059g)이 글로브백안의 건질소공기에서 250ml 쉬랭크 튜브로 계량된다. 건(dry) 테트라히드로후란 50ml가 질소분위기하에서 투입되고 반응혼합물은 50°C에서 6시간동안 취저어진다. 이것은 방해진 스토이키오메트리를 가진 대표적 단계 성장반응으로서 말단 히드록시그룹을 가진 저분자량 폴리오소카보네이트에서 기인한다. 올리머는 핵산 안에서 석출됨에 의해 분리되어지고 진공 상태에서 건조된다.

올리머 5g은 건 THF에서 재용해되며 거기에 디부틸틸딘라우레이트 20 $\mu$ l와 아이소시안노토에틸, 메타크릴레이트 2ml가 천천히 투입되며 온도는 50°C까지 상승된다. 그 상태에서 6시간동안 유지되고 나서 냉각된다. 생성물은 핵산에서 석출됨에 의해 분리된다. 이 겹상태에서 낫출 수 있는 영역은 폴리오소카보네이트이다.

[실시에 18][동물세포의 미소캡슐화]식염으로 완충된 HEPES 18.5Kg의 23%용액은 10

<sup>6</sup>CEM-SS를 재현탁하기 위하여 사용된다. 에틸이오신(10

<sup>4</sup>)은 개시제로서 N-비닐피롤리돈에서 용액으로서 사용되며 트리에탄올라민은 공동개시제로서 사용된다. 그 용액은 아르곤이온레이저(514nm, 2watts)에 대해 공동압출장치를 통해 노출된다.

상기 공동압출장치는 선봉세포 서스펜션(유속 0.5ml/min)의 압출흐름주위에 환상의 유체흐름(유속 4ml/min)으로서 광물기름을 갖는다. 상기 미세비말(microdriplets)은 레이저에 노출된 상태에서 급속히 겹화된다. 그리고 PBS를 포함

하는 용기에 수집된다. 상기 기름은 물로된 상태에서부터 분리되고 중심체들은 PBS아래에서 수집될 수 있다. 형성된 상기 중심체들은 반응하지 않는 모노머와 나머지 개시제를 제거하기 위해 PBS 완충액과 함께 충분히 세척된다.

중심체들의 크기와 모양은 방출속도와 방출하는 모세관 직경(18Ga에서 25Ga까지)에 종속된다. 중합화시간은 개시제 농도(에틸이오신 5 $\mu$ M에서 0.5 $\mu$ M), 비닐피롤리돈(0.001% 에서 0.1%까지) 그리고 트리에탄올라민(5 $\mu$ M에서 0.1M까지), 레이저동력(120mW에 2W), 그리고 모노머 농도(>10%w/v)에 종속적이다.

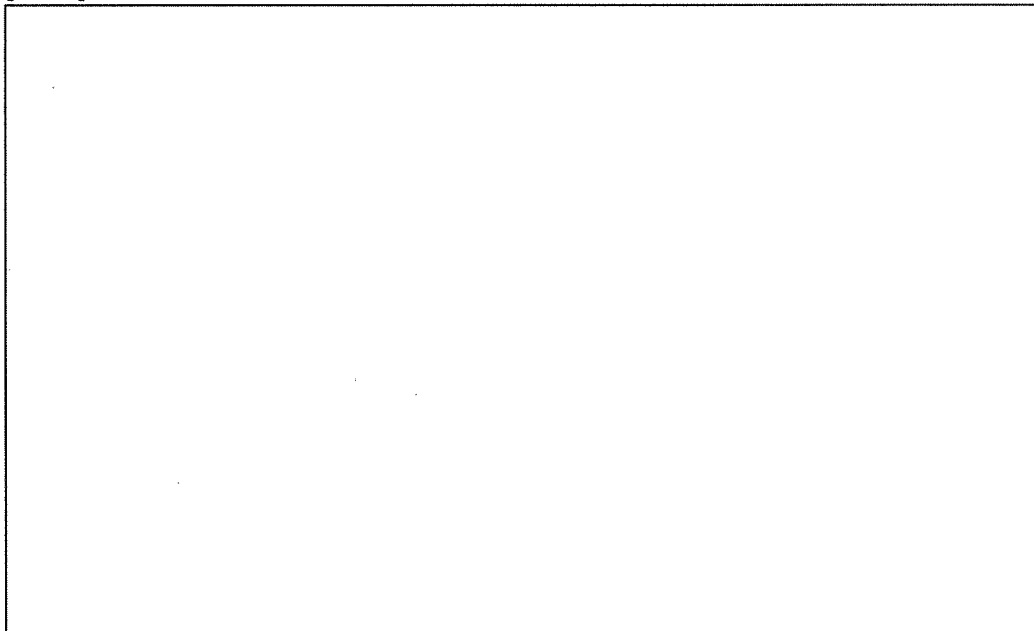
이 방법을 사용하여 준비된 중심체들 500 $\mu$ m에서 1200 $\mu$ m까지의 직경을 갖는다. 상기 중합화는 공기 존재하에서 생리학적으로 pH상태에서 수행된다. 이것은 급속한 중합화가 산소의 존재에 의해 영향받을 수 있으므로 중요하다. 캡셀화에 기인하는 세포의 생활력을 트립판 청 배재(trypsin blue exclusion)분석에 의해 조사된다. 캡셀화된 세포는 캡셀화 후에 95%이상 더욱 활기 있는 것으로 밝혀졌다.

[실시에 19][수술 후 유착을 방지하기 위한 다양한 제재]PEG-올리고( $\alpha$ -히드록시산)디아크릴레이트와 수술 후 유착을 막기 위한 테트라아크릴레이트의 용도는 전에 묘사된 토끼 자궁각 모델에서 평가된다. 위에서 설명된 바와 같이 다음 중합체가 합성된다.: PEG 6K 락타이드 디아크릴레이트(10KL)PEG 18.5K 락타이드(18.5KL), PEG 20K 락타이드.

900ppm 2,2-디아메톡시-2-페닐아세토펜을 가진 PBS에서의 24%중합체용액은 위에서 묘사된 바와 같이 준비된다. 상기 용액은 위에서 묘사된 바와 같이 혈관입구 소각 후 자궁각에 바르고 365nm LWUV램프로 비춰진다. 상기 공식에서, 18.5KL, 5mg t-PA는 바르기 전에 상기 용액 속에서 혼합된다.

제어는 마크로머 용액을 가지고 조작되고 소각된 동물로 구성된다. 측정은 14일  $\pm$  1일 동안 수행된다. 유착의 범위는 유착에 포함된 각의 조각으로부터 평가된다. 유착의 집착성은 유착이 없는 경우는 0으로, 해부에 대한 저항이 없는 얇은 유착은 1로, 손에 의해 해체될 수 있는 섬유성 유착은 2로, 무딘 기구에 의해 해부될 수 있는 섬유성 유착은 3으로, 날카로운 기구에 의해 해부될 수 있는 섬유성 유착은 4로 매겨진다. 그 결과 다음과 같이 유착의 범위와 유착의 집착성이 나타난다.

[표 12]



[실시에 20][혈관이 손상 받은 후 혈전을 감소시키기 위한 혈과 표면 상의 중합체 초박막층의 중합화]혈관은 쥐로부터 추출되고 피는 깨끗이 씻어낸다. 혈관의 내피는 나무로 된 못을 삽입하여 그 못에 대해 회전시킴으로서 제거된다.

어떤 혈관은 제어로서 사용되며 더 이상의 수정 없이 아래 설명된 대로 흐르는 피에 노출시킨다.

다른 혈관은 처음에는 식염 안에서 1mM의 이오신 Y에 노출시키는 처리가 행해지고 식염으로 완충된 HEPES에서 헹구어지고, 트리에탄올라민(TEA)(100mM)과 N-비닐피롤리돈(Vp)(0.15%)을 포함하며, 아크릴레이트로 캡 씌워진 DL 락타이드의 올리고머를 갖는 PEG-MA, PEG 10K의 용액으로 채워진다.

상기 혈관의 루멘(lumen)에 있어서 비중합화된 전중합체 혼합물은 식염으로서 행구어 버린다.

사람의 혈액은 전주의 정맥으로부터 수집되어 2 units/ml에서 헤파린과 함께 항응고된다. 이 혈액은 7분 동안 거의 벽 전단 속도 200/s에 대응하는 유속으로 주사 펌프에 의해 각 혈관을 통하여 뿌려진다.

상기 처리된 혈관은 색채를 띠거나, 살포전의 색채에 비해 살포후의 색채와 차이가 나지 않는다. 반면, 미처리된 콘트를 혈관은 혈액색을 나타낸다. 각 혈관의 얇은 세그먼트는 각혈관에서 전달되었고 양쪽 선단 위에 놓여지며 환경검사전자 현미경(environmental scanning electron microscopy; ESEM)으로 검사되었다. ESEM은 비교적 낮은 진공 안에서 수화된 시료 위에서 행하여졌다. 이로써 젖은 상태로 코팅된 중합필름(polymer film)이 보여질 수 있게 되었다. 중합필름이 약 90%의 수분으로 되어 있기 때문에 측정치를 얻는 것이 중요하다는 것을 쉽게 알 수 있다. 트롬보부스(thrombus)의 정도(degree)가 높은 것이 콘트를 혈관에서 쉽게 관찰된다. 이 혈관의 루멘은, 제6(a)도에 도시된 바와 같이, 트롬부스의 축적에 의해 예비살포 직경의 1/3정도 이하의 직경으로 줄어 아주 좁아져 있다.

이와는 대조적으로 제6(b)도에 도시된 바와 같이 처리된 혈관의 루멘내에는 어떤 트롬부스도 관찰될 수 없었다.

혈관 벽을 더 높은 배율로 보더라도 점착된 트롬부스는 하나도 볼 수 없었다. 아주 더 높은 배율로 보면, 중합필름인 흰 조직이 보이는데 이것은 ESEM의 전자빔(beam)하에서 전위차 때문에 섬유조직과는 다르게 보인다. 상기 필름은 혈관의 형상과 정확하게 일치하며 약 5-8 $\mu$ m 두께임을 알 수 있다.

중합영역은 혈관 벽의 인접부와는 나누어져 있다. 광반응(photosensitive)염료는 혈관벽에 흡수되었다. 결합되지 않은 염료는 세척되어졌다. 전체 루멘은 폴리마로 채워졌으나, 빛을 비추어 겔 형성은 염료와 프리폴리머가 만나는 혈관 벽에는 제한되었다.

이 계면 중합과정은 표면점착성에 두께가 7 $\mu$ m 이하에서 500 $\mu$ m 이상으로 변화하는 층을 형성시키기 위해 수행될 수 있다.

상기 과정은 8개의 콘트를 쥐 동맥과 8개의 처리동맥에서 현미경조직결과로 행하여졌다. 이 연구에서 밝혀진 바와 같이, PEG 프로폴리머는 혈관의 루멘표면에 중합될 수 있다.

이 수정의 즉각적인 효과는 상처난 혈관표면의 트롬보겐화를 줄여주는 것이다. 이것은 혈관의 트롬보겐화의 벌룬(balloon) 팽창에 의해 입은 상처를 줄여줌으로써 벌룬혈관성형술(balloon angioplasty) 결과를 개선하는데 유용한 것이다. 또다른 효과는 부드러운 근육 비대화를 줄여 줄 수 있다는 것이다. 이것에는 2가지 이유가 예상된다. 첫째는, 혈소판은 유력한 성장인자, 혈소판-유도성장인자(PDGF), (이들 인자는 후-혈관 비대 형성에 관련 있는 것으로 예상된다.)를 포함하고 있다. \*\*\* 이상에서 기술된 방법은, 혈구와 혈관벽 사이의 상호작용을 변경하고, 효소 및 다른 단백질, 하이하루로닉산과 같은 폴리사카라이드, 안티센스 및 리보짐과 같은 PDGF자체의 전달 방해는, 혈소판에 의해 전달되는 약물이 방해를 받는다는 점에서, 생약학적인 조정이 필요하게 된다. 혈전증은 트롬빈 생성을 낮고 이것이 알려진 근육 세포 미토겐이다.

트롬빈 생성의 방해 및 혈관으로의 전달도 생약학적 조정이 필요하다. 더욱이 플라즈마에 잘 녹는 다른 성장인자가 있는데 이것이 연성 근육세포 미토겐이다. 겔 층은 섬유표면위에 선택적 투과성 장애물이 있고 따라서 겔층은 혈관형성 후 비대 현상을 감소시킬 것으로 예상된다. 특히, 겔은 혈관이 트롬빈과 같은 혈관압착제에 노출되는 것을 막아 줌으로써 혈관경련을 줄여 줄 수 있다. 그리고 재폐쇄의 빈도를 줄여 줄 수 있다.

[실시에 21][혈전증을 막기 위해 혈관내부에서 마크로머의 계면중합.]

혈전증을 막기 위해 이미 손상된 혈관 내부의 계면에서 본래의 위치(in situ)로 매크로머가 중합된다.

경동맥이 노출되고 폴리에틸렌 튜브(PE-10)가 사용되어 뇌부 경동맥을 캐눌라(cannula)한다. 경동맥 준기 내외부 중앙부에 미세한 동맥검자로 경동맥을 클램프하고 분기 말단에 약 2cm로 조여지었다. 투베르쿨린(tuberculin) 세척기로 혈관을 채우고 다시 비워서 분리된 부분의 관강에 있는 피를 씻어낸다. 지혈제로 압착하여 혈관을 손상시켰다. 분리된 부분에 10mM 에오신Y 용액이 2분 동안 채워지고 난 후, 상기 분리된 부분을 씻어내고 다시 0.1mM 삼에탄올아민과 0.15% N-비닐피롤리디논이 함유된 식염에 20% 매크로머용액으로 채운다. 매크로머는 분자량 8,000 달톤인 PEG고리가 있고, 그 양끝에 5 락티딜군(lactidyl group)의 평균중합도를 가진 락트산 올리고머를 연결하고, 다시 아크릴로일 클로라이드와 반응시켜 양끝에 명목상으로 아크릴레이트화 했다. 이 혈관에 광도가 약 1mW/cm

<sup>2</sup>인 아르곤 이온레이저(514nm)를 5초동안 혈관 벽을 넘도록 조사했다.

이 다음에 캐눌레(cannula)를 외부 경동맥에서 제거하고 그 동맥을 분기에 결찰했다. 혈액이 다시 흘러가도록 동맥결자(artery clamps)를 제거했다. 20분간 혈액을 넣은(perfusion) 후 혈관을 다시 몸체로부터 분리 제거하고 조심스럽게 세척, 고정하여 광현미경 조직분석을 위해 준비시켰다.

대조 동물(control animals)에서 손상부에 빛을 쬐어 주지 않으면 육안으로 보아 붉은 색을 띠며, 그로부터 내부 혈전에 적혈구가 내포돼 있음을 알 수 있다. 이와는 대조적으로 혈관이 치료되면 손상된 부위에 붉은 색이 관측되지 않는다.

치료되지 않은 혈관에 넓은 범위의 혈전(thrombus), 피브린 및 적혈구 내포 등을 조직을 통해 알 수 있다. 이와 반대로 치료된 혈관에서는 혈전, 피브린, 적혈구 내포 등을 관측할 수 없었다. 상기 실험은 4개의 대조 동물과 3개의 치료동물에서 진행되었다.

상기 실시예에서 증명되듯이 중합은 생체에서 본래의 위치(in situ)로 진행되고, 중합체 회복은 동맥혈이 흐르는 동안 혈관 벽에 유착되며, 중합체 회복은 항응고되지 않는 동물에서 생체내(in vivo)로 혈전증을 예방하게 된다. 이런 치료 방법은 맥관 내 수술 후 돌발적인 재봉합, 맥관경축(vasospasm)과 레스테노시스를 방지하는데 효과적이다. 더군다나 다른 관강내 기관이나 개방형 표면 기관을 치료하는데 잘 응용될 수 있다.

본 발명의 변경이나 변화, 매크로머와 중합체의 성분 그리고 사용방법은 관련 기술 분야의 당업자에게 명백하도록 상기에 상술하였다. 그런 변경 및 변화는 첨부된 청구범위의 영역 내에 포함되어야 할 것이다.

## (57) 청구의 범위

### 청구항1

적어도 하나의 수용성 영역, 생체조건안에서 가수분해되는 적어도 하나의 분해성 영역 및 매크로머의 연결을 낳는 부가적인 공유결합을 형성할 능력이 있는 자유라디칼 중합가능 말단기를 포함하며, 중합가능 말단기는 적어도 하나의 분해성영역에 의해 서로 분리되는 수용용액에서 적어도 1g/100ml정도의 용해도를 갖는 생분해성, 중합가능 매크로머.

### 청구항2

제1항에 있어서, 상기 수용성 영역은 분해성 영역에 결합되어 있고, 적어도 하나의 중합가능 말단기는 수용성 영역에 결합되어 있으며, 적어도 하나의 중합가능 말단기는 분해성 영역에 결합되어 있는 것을 특징으로 하는 매크로머.

### 청구항3

제1항에 있어서, 상기 수용성 영역은 중심코어(central core)를 형성하고, 적어도 두 개의 분해성 영역이 상기 코어에 결합되고, 중합가능 말단기가 분해성 영역에 결합되는 것을 특징으로 하는 매크로머.

### 청구항4

제2항에 있어서, 상기 분해성 영역은 중심코어이고, 적어도 두 개의 수용성 영역이 상기 코어에 결합되고, 중합가능 말단기가 각각의 수용성 영역에 결합되는 것을 특징으로 하는 매크로머.

### 청구항5

제1항에 있어서, 상기 수용성 영역은 매크로머의 중추이고, 상기 분해성 영역은 매크로머중추에 결합된 가지 또는 접가지(graft)이며, 말단기가 분해성 영역에 결합되는 것을 특징으로 하는 매크로머.

### 청구항6

제1항에 있어서, 상기 분해성 영역은 매크로머의 중추이고, 상기 수용성 영역은 매크로머중추에 결합된 가지 또는 접가지(graft)이며, 중합가능 말단기가 수용성 가지 또는 접가지에 결합되는 것을 특징으로 하는 매크로머.

### 청구항7

제1항에 있어서, 상기 수용성 영역은 별형(star) 중추이고, 상기 분해성 영역은 수용성 별형 중추에 결합된 가지 또는 접가지(graft)이며, 적어도 두 개의 중합가능 말단기가 분해성 가지 또는 접가지에 결합되는 것을 특징으로 하는 매크

로며.

**청구항8**

제1항에 있어서, 상기 분해성 영역은 별형(star) 중추이고, 상기 수용성 영역은 분해성 별형 중추에 결합된 가지 또는 접가지(star)이며, 두 개 또는 그 이상의 중합가능 말단기가 수용성 가지 또는 접가지에 결합되는 것을 특징으로 하는 매크로머.

**청구항9**

제1항에 있어서, 상기 수용성 영역은 또한 분해성 영역인 것을 특징으로 하는 매크로머.

**청구항10**

제1항에 있어서, 상기 수용성 영역은 또한 분해성 영역이며 하나 또는 그 이상의 추가된 분해성 영역이 수용성 영역에 대해 가지 또는 접가지를 이루는 것을 특징으로 하는 매크로머.

**청구항11**

제1항에 있어서, 수용성 코어(core) 영역, 코어에 있는 적어도 두 개의 분해성 연장줄기, 적어도 두 개의 분해성 연장줄기에 있는 말단 캡(end cap)을 포함하며, 상기 코어는 폴리(에틸렌글리콜)를 포함하고, 각각의 연장줄기는 생분해성 폴리( $\alpha$ -히드록시산)를 포함하며, 각각의 말단 캡은 아크릴레이트 올리고머 또는 모노머를 포함하는 것을 특징으로 하는 매크로머.

**청구항12**

제11항에 있어서, 상기 폴리(에틸렌글리콜)는 400~30,000 Da 가량의 분자량을 갖고, 상기 폴리( $\alpha$ -히드록시산) 올리고머는 200~1200 Da 가량의 분자량을 가지며, 상기 아크릴레이트 올리고머 또는 모노머는 50~200 Da 가량의 분자량을 갖는 것을 특징으로 하는 매크로머.

**청구항13**

제12항에 있어서, 상기 폴리(에틸렌글리콜) 올리고머는 10,000 Da 가량의 분자량을 갖고, 상기 폴리(글리콜산) 올리고머는 250 Da 가량의 분자량을 갖고, 상기 아크릴레이트 올리고머는 100 Da 가량의 분자량을 갖는 것을 특징으로 하는 매크로머.

**청구항14**

제1항에 있어서, 상기 중합가능 말단기는 가교화(cross-linking) 및 중합될 수 있는 탄소간 이중결합을 가지는 것을 특징으로 하는 매크로머.

**청구항15**

제1항에 있어서, 매크로머의 가교화와 중합화는 공촉매가 있거나 없이, 화학적·열적 또는 광감수성 자유라디칼 중합개시제에 의해 개시될 수 있으며, 더 나아가 자유라디칼 중합개시제를 포함하는 것을 특징으로 하는 매크로머.

**청구항16**

제15항에 있어서, 상기 개시제는 아민(amines), 염료(dyes), 캄포퀴논(camphorquinones), 아세토펜(acetophenones)으로 구성된 그룹에서 선택되는 것을 특징으로 하는 매크로머.

**청구항17**

제16항에 있어서, 상기 개시제는 트리에탄올아민으로 된 에오신염료, 트리에탄올아민으로 된 에칠에오신염료, 2,2-디메톡시-2-페닐아세토펜, 2-메톡시-2-페닐아세토펜으로 구성된 그룹에서 선택되는 것을 특징으로 하는 매크로머.

**청구항18**

제1항에 있어서, 가교화 또는 중합은 320nm 또는 이보다 긴 파장을 갖는 빛에 의해 본래의 위치(in situ)에서 개시될

수 있는 것을 특징으로 하는 매크로머.

#### 청구항19

제1항 또는 제11항에 있어서, 상기 분해성 영역은 폴리( $\alpha$ -히드록시산), 폴리(락톤), 폴리(아미노산), 폴리(안히드ريد), 폴리(오르토에스테르), 폴리(포스포에스테르)로 구성된 그룹에서 선택되는 것을 특징으로 하는 매크로머.

#### 청구항20

제19항에 있어서, 상기 폴리( $\alpha$ -히드록시산)는 폴리(글리콜릭산), 폴리(DL-락트산), 폴리(L-락트산)로 구성된 그룹에서 선택되는 것을 특징으로 하는 매크로머.

#### 청구항21

제19항에 있어서, 상기 폴리(락톤)는 폴리( $\epsilon$ -카프로락톤), 폴리( $\delta$ -발레로락톤) 또는 폴리( $\lambda$ -부티로락톤)으로 구성된 그룹에서 선택되는 것을 특징으로 하는 매크로머.

#### 청구항22

제1항에 있어서, 상기 수용성 영역은 폴리(에틸렌글리콜), 폴리(에틸렌옥사이드), 폴리(비닐알코올), 폴리(비닐피롤리돈), 폴리(에틸옥사졸린), 폴리(에틸렌옥사이드)와 폴리(프로필렌옥사이드)의 블록 공중합체, 탄수화물(carbohydrates) 및 이들의 조합등으로 구성된 그룹에서 선택되는 것을 특징으로 하는 매크로머.

#### 청구항23

제1항에 있어서, 탄수화물, 핵산, 유기분자 및 무기생물학적 활성분자로 구성된 그룹에서 선택되는 생물학적 활성분자를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 매크로머.

#### 청구항24

화학적·열적 또는 광감수성 자유라디칼 중합개시제와 제1항의 수용성, 생분해성 중합가능 매크로머를 포함하고, 수술이나 외과적 치료후에 발생하는 유착(adhesion)을 감소시키는데 효과가 있는 조직 치료용 제재.

#### 청구항25

제24항에 있어서, 상기 수용성, 생분해성, 중합가능 매크로머는 코어, 상기 코어에 있는 적어도 두개의 연장줄기, 적어도 두 개의 연장줄기에 있는 말단 캡을 포함하며, 상기 코어는 친수성의 폴리머 또는 올리고머이고, 각각의 연장줄기는 생분해성 올리고머 또는 모노머이며, 각각의 말단 캡은 매크로머의 가교 및 중합 능력이 있는 올리고머 또는 모노머인 것을 특징으로 하는 조직치료용 제재.

#### 청구항26

제24항에 있어서, 상기 수용성, 생분해성, 중합가능 매크로머는 탄소간 이중결합이 있는 부가화합물을 포함하는 탄수화물인 것을 특징으로 하는 조직치료용 제재.

#### 청구항27

제26항에 있어서, 상기 수용성, 생분해성, 중합가능 매크로머는 히알루론산(hyaluronic acid) 또는 황산콘드로이틴(chondroitin sulfate) 또는 황산 헤파란(heparan sulfate) 또는 덱스트란(dextran) 또는 황산덱스트란(dextran sulfate)으로서 이들 각각은 탄소간 이중결합이 있는 화합물을 포함하는 것을 특징으로 하는 조직치료용 제재.

#### 청구항28

화학적·열적 또는 광감수성 자유라디칼 중합개시제와 제1항에 수용성, 생분해성, 중합가능 매크로머를 함유하고, 생물학적 활성물질들을 포함하며, 상기 생물학적 활성 물질의 전달을 조절하는데 효과가 있는 조직치료용 제재.

#### 청구항29

제28항에 있어서, 상기 생물학적 활성물질이 효소, 항생물질, 항암제, 신경전달물질, 국소마취제, 호르몬, 항체, 정신

흥분제(psychoactive drug), 생식기관에 영향을 미치는 약물, 안티센스(antisense) 올리고뉴클레오타이드인 것을 특징으로 하는 조직치료용 제제.

**청구항30**

환자의 치료를 위한 송달조절이나 유지를 위한 생물학적 활성물질의 캡셀화 방법에 있어서, 생물학적 활성물질을 화학적·열적 또는 광감수성 자유라디칼 중합개시제와 제1항의 수용성, 생분해성, 중합가능 매크로머를 포함하는 수성용액과 혼합하고, 상기 혼합된 용액을 시트(sheets), 로드(rod), 스피어(spheres), 마이크로파티클(microparticles) 또는 나노파티클(nanoparticles)의 형태로서 상기 매크로머를 중합시키기에 충분한 빛에 노출시키는 것을 포함하는 것을 특징으로 하는 생물학적 활성 물질의 캡셀화 방법.

**청구항31**

제30항에 있어서, 상기 수용성, 생분해성, 중합가능 매크로머는 탄소간 이중결합을 갖는 부가화합물을 포함하는 탄수화물인 것을 특징으로 하는 캡셀화 방법.

**청구항32**

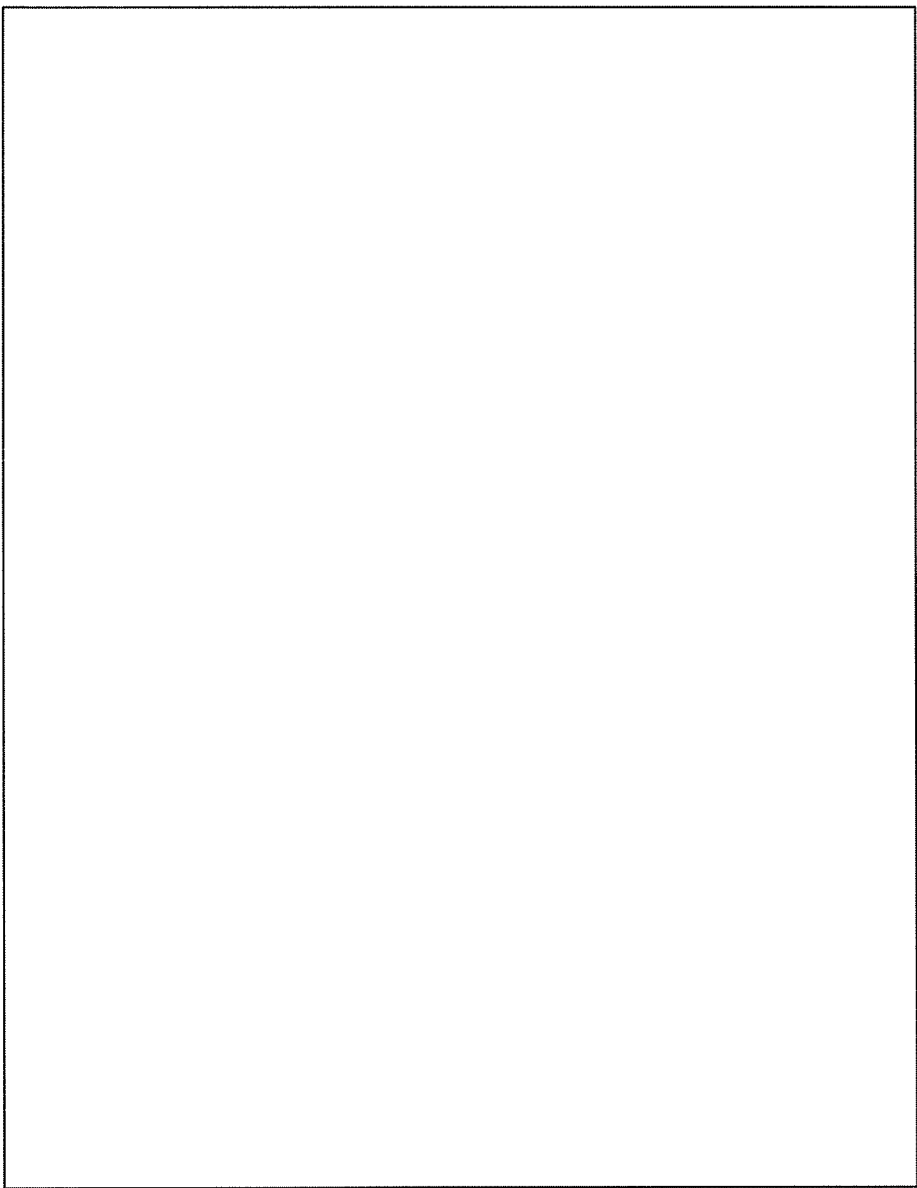
제30항 또는 제31항에 있어서, 상기 매크로머가 폴리(에틸렌글리콜)의 친수성 코어를 갖는 것을 특징으로 하는 캡셀화 방법.

**청구항33**

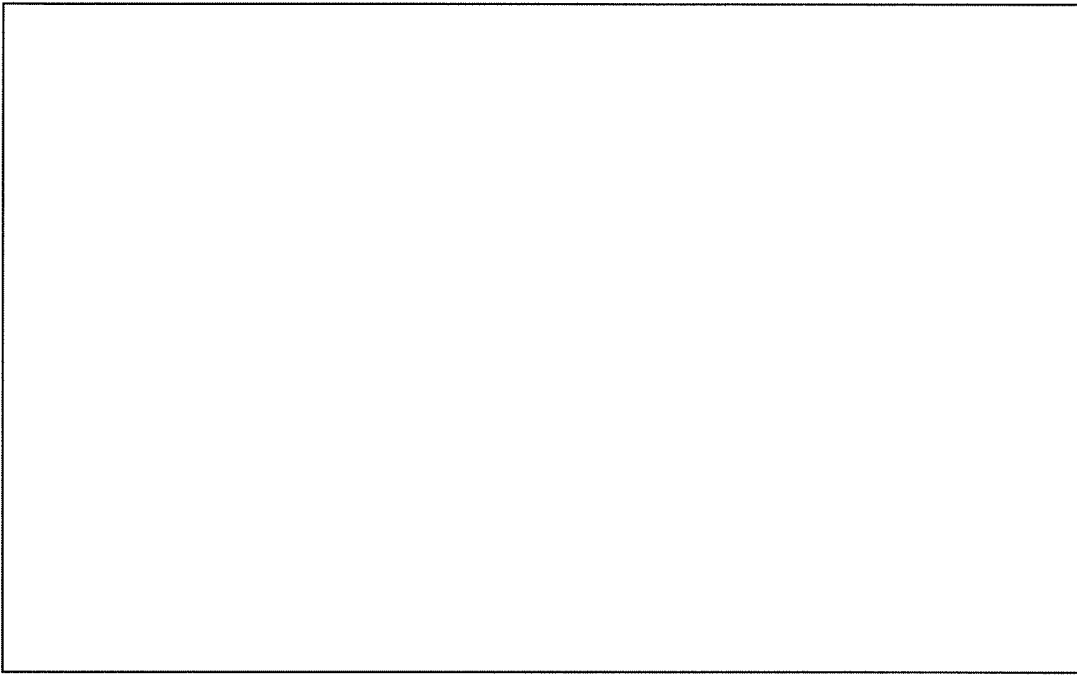
제32항에 있어서, 상기 매크로머가 아크릴레이트(acrylate) 또는 메트아크릴레이트(methacrylate) 말단 캡을 갖는  $\alpha$ -히드록시산의 두 개의 올리고머로 연장되는 것을 특징으로 하는 캡셀화 방법.

도면

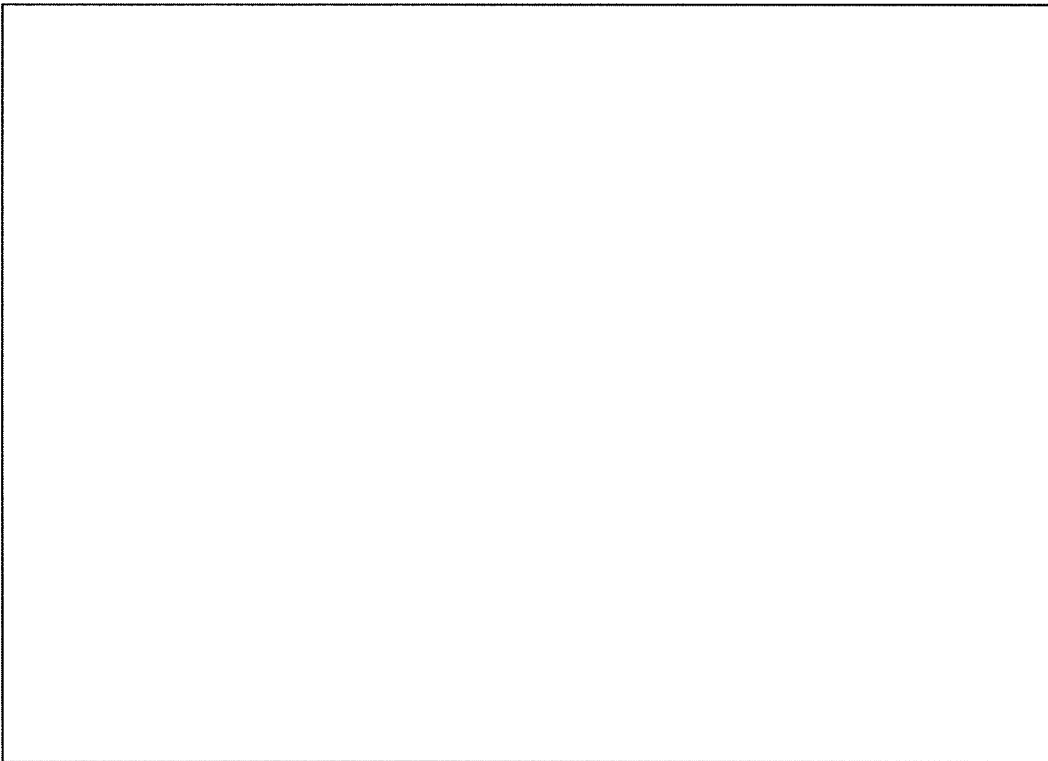
도면1a



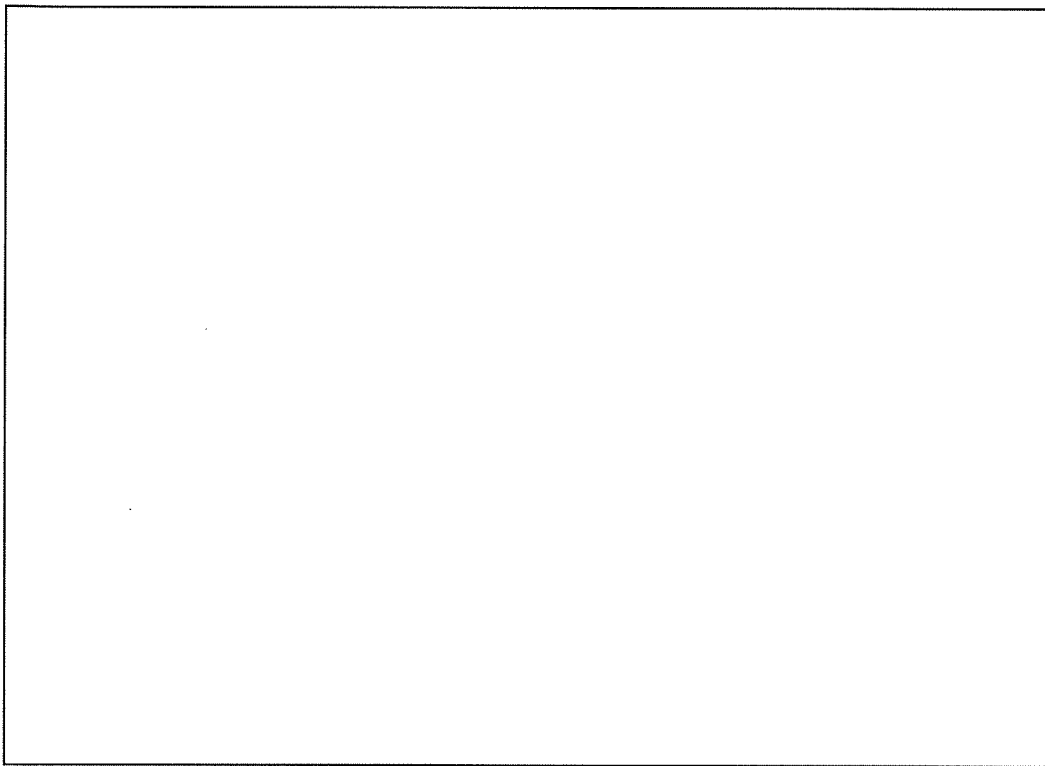
도면1b



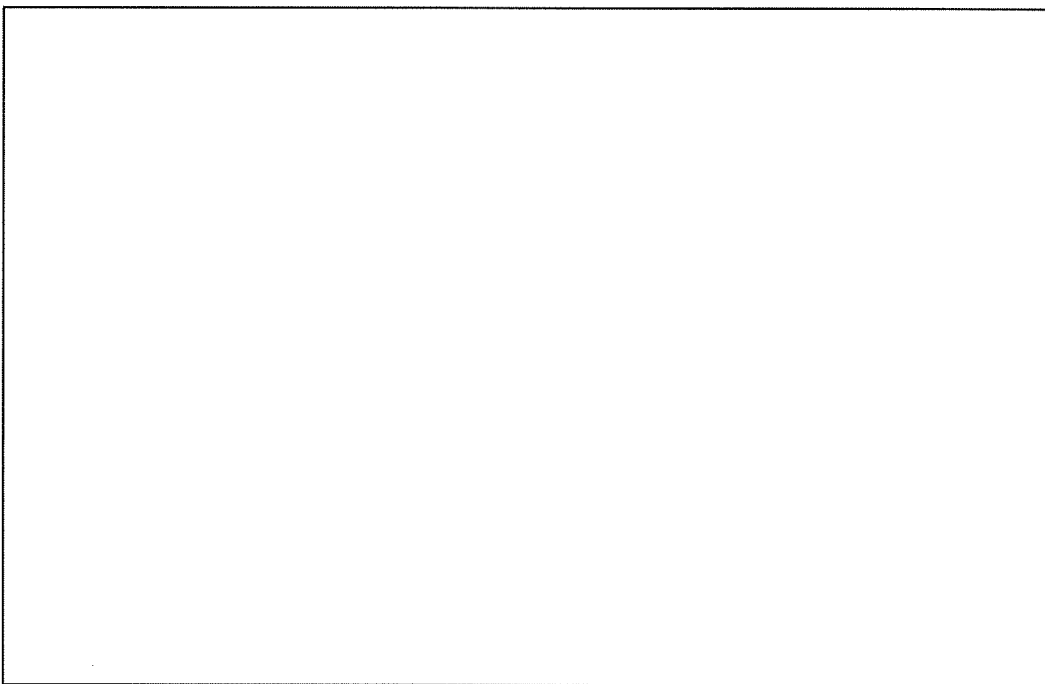
도면2a



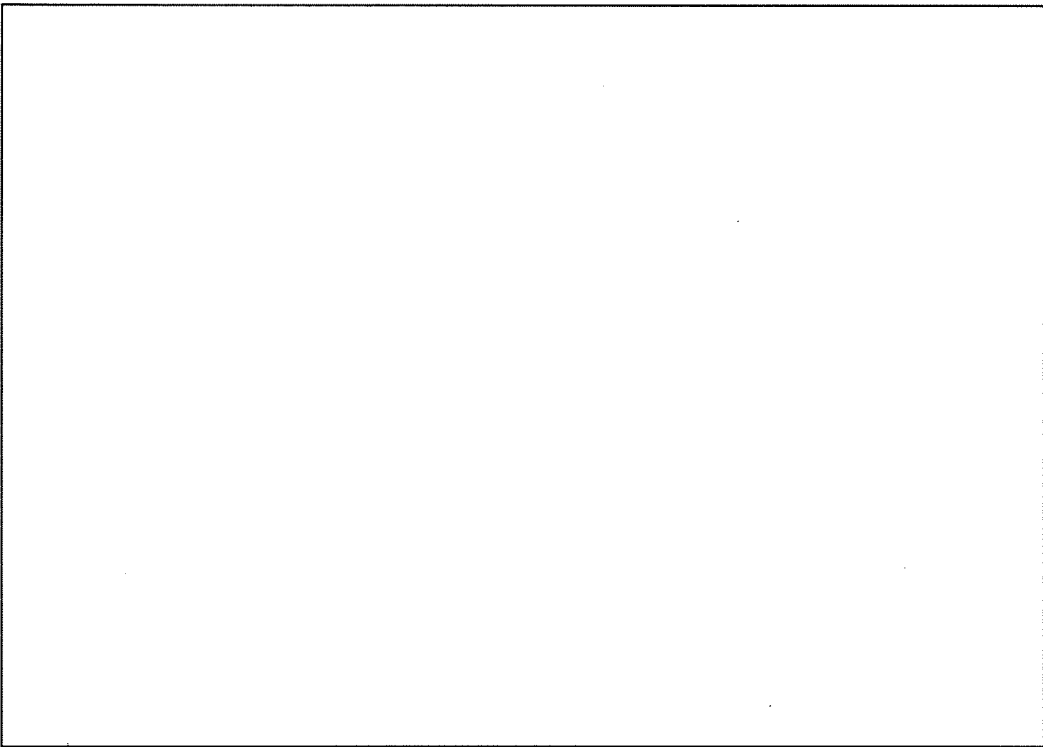
도면2b



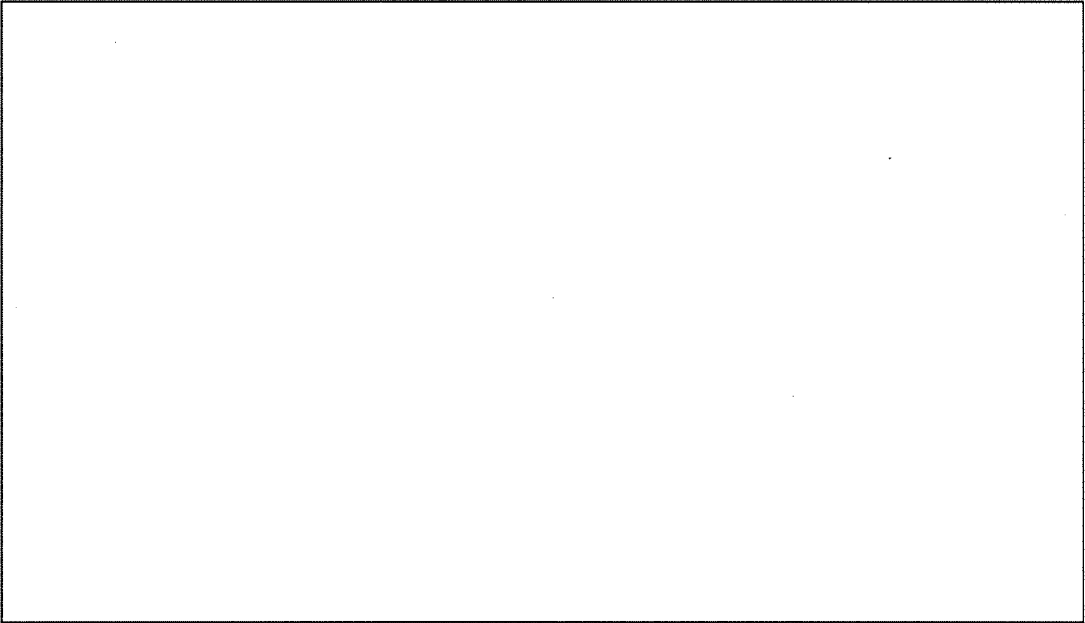
도면3a



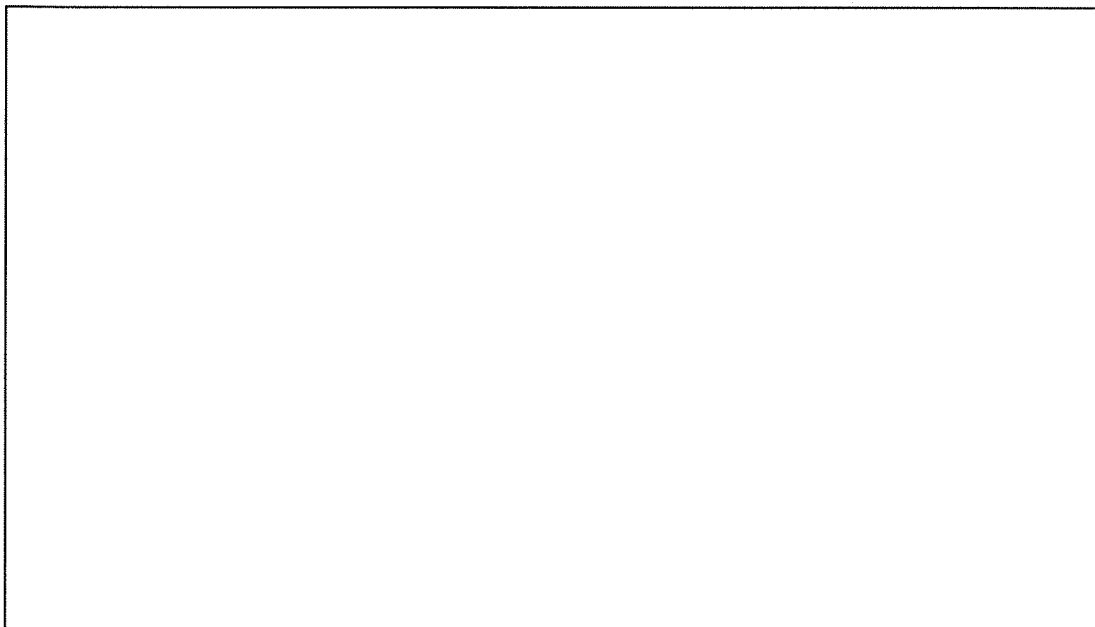
도면3b



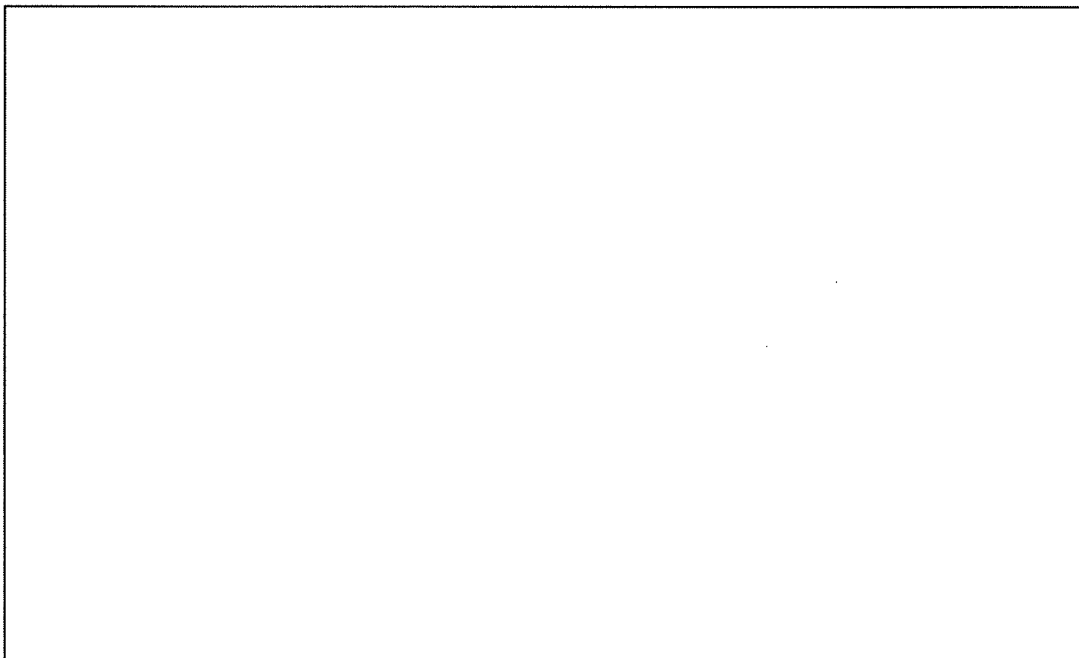
도면4a



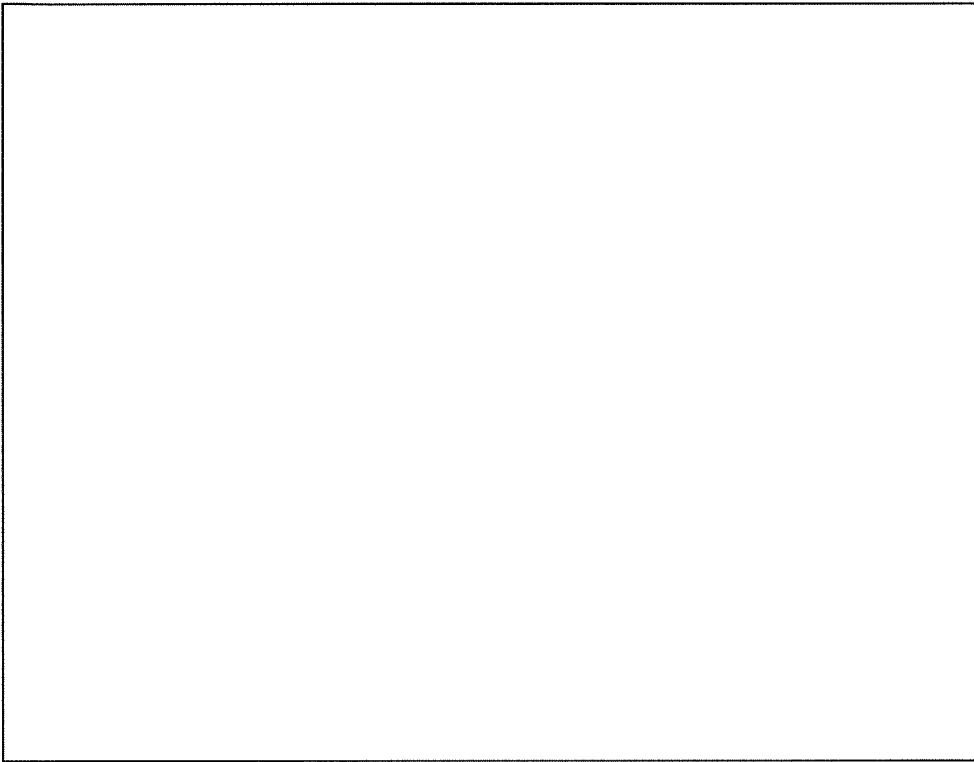
도면4b



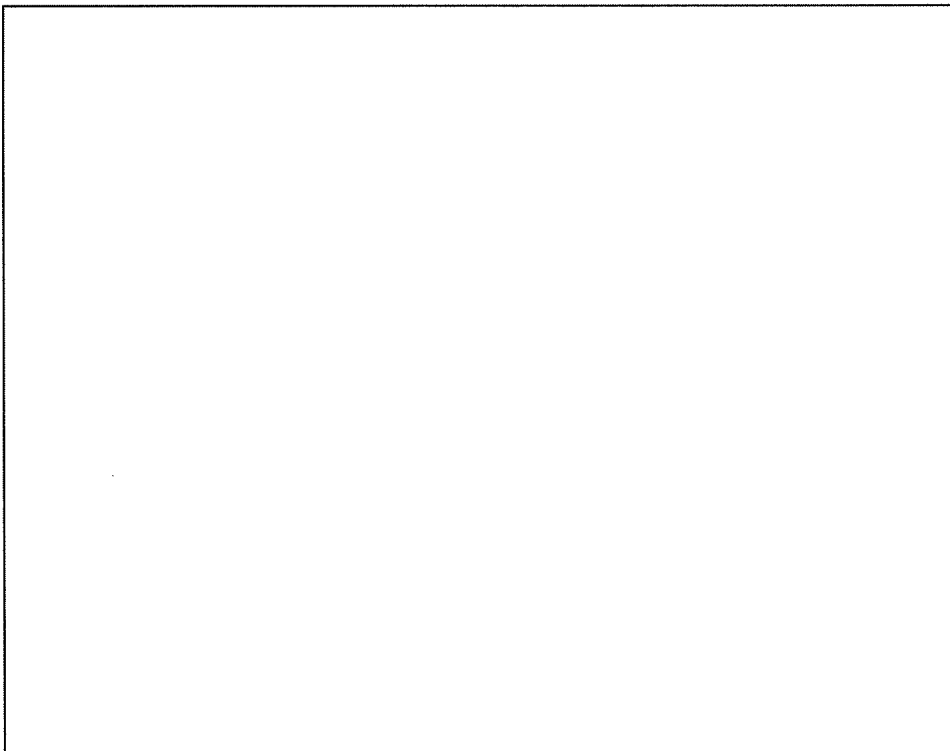
도면4c



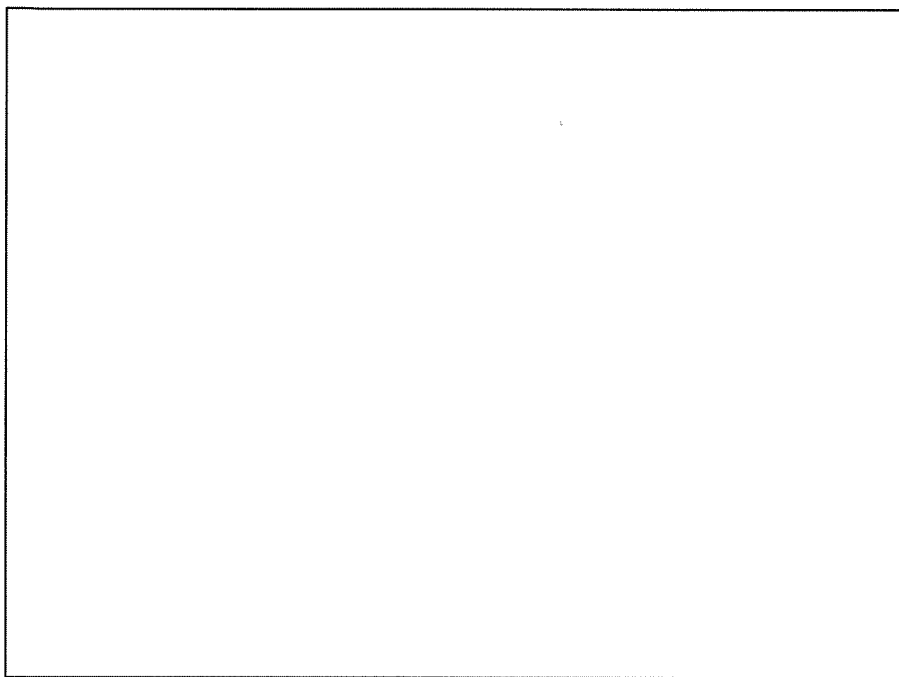
도면5a



도면5b



도면6a



도면6b

